THÈSE

Présentée à

L'UNIVERSITE DE PROVENCE

Pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
mention sciences physiques

Par

S. JACQUES ABITBOUL
Ingénieur C.N.A.M.

ECHANGES IONIQUES AU NIVEAU DES GROUPES CARBOXYLIQUES D'UN POLYACIDE ETALE EN COUCHES SUPERFICIELLES. COMPARAISON AVEC LE COMPORTEMENT DES SITES (-) PORTES PAR LES MEMBRANES NERVEUSES

Soutenue le 13 OCT 1975 devant la commision d'examen

MM. R. MERIGOUX — président
M. DELAAGE — examinateurs
J.F. BARET
Mme L. TER MINASSIAN-SARAGA

THÈSE

Présentée à

L'UNIVERSITE DE PROVENCE

Pour l'obtention du titre de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE
mention sciences physiques

Par

S. JACQUES ABITBOUL

Ingénieur C.N.A.M.

UNIVERSITE DE PROVENCE

ECHANGES IONIQUES AU NIVEAU DES GROUPES CARBOXYLIQUES D'UN POLYACIDE ETALE EN COUCHES SUPERFICIELLES. COMPARAISON AVEC LE COMPORTEMENT DES SITES (-) PORTES PAR LES MEMBRANES NERVEUSES

Soutenue le 13 OCT 1975 devant la commision d'examen

MM. R. MERIGOUX — président
M. DELAAGE — examinateurs
J.F. BARET
Mme L. TER MINASSIAN-SARAGA

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

A Monique et Moïse
mes parents,
avec toute mon affection.

A Messieurs les Professeurs R. MERIGOUX, Président du jury, M. DELAAGE, examinateur et J.F. BARET, examinateur, qu'il me soit permis d'exprimer ma profonde reconnaissance pour la confiance qu'ils ont bien voulu me témoigner en acceptant de juger ce travail.

PLAN D'ETUDE

I - HISTORIQUE - GENERALITES

II - POSITION du PROBLEME

III - DEFINITIONS - RAPPELS.

1. Tension superficielle.

2. Pression superficielle.

3. Potentiel de Surface. Définition. 1
. Le film et son potentiel de surface.

4. Equilibres et Constantes d'Equilibre. 13

IV - TECHNIQUES - METHODES de MESURE - APPAREILLAGE. 16

1. Tension superficielle. 16

a - Principe de la méthode.
b - Appareillage. Tensiomètre de "Dognon-Abribat".
. Capteur de tension "Sanborn".

2. La Pression superficielle - Isothermes. 21

. Compression.
. Etalements successifs.

3. L'adsorption d'un élément marqué par un film insoluble. 2

a - Mode opératoire.
b - Détermination de A_o et A_f.
c - Dilution isotopique.

4. Le potentiel de Surface. 3

a - Les électrodes.
b - La cellule.
c - Mode opératoire.

V - PRODUITS - SOLUTIONS 3

.../...

VI - RESULTATS EXPERIMENTAUX. ----------36

1. Le Polyélectrolyte P.S. 16. 36
   A - Solubilisation du P.S. 16
      1. Choix du solvant
      2. Composition du solvant.
   B - Etat du film étalé de P.S. 16, en fonction de la densité superficielle. 41
   C - Quantité de Calcium adsorbé, en fonction de la densité. 45
2. Les pressions superficielles. 46
3. Adsorption du Calcium par les films de P.S. 16. 51
4. Les potentiels de surface. 54

VII - INTERPRETATION des RESULTATS EXPERIMENTAUX et DISCUSSION.---------59

1. Etat superficiel des films de P.S. 16, ionisations. 59
2. Confrontation avec les résultats de mesures de potentiel de surface. 6
3. Conséquences biologiques. 7

VIII - CONCLUSIONS.----------8

ANNEXES

ADDENDUM :

1. Introduction 1.A
2. Matériel et méthode 2.A
3. Conduite des expériences 4.A
4. Conclusion 9.A

BIBLIOGRAPHIE

I - HISTORIQUE - GENERALITES.

Les travaux des physiologistes, à la fin du siècle dernier et au début de ce siècle, mirent en lumière les problèmes relatifs à l'ion Calcium et à sa régulation, surtout en tant qu'ion bivalent extracellulaire et intracellulaire.

L'ion Calcium, extracellulaire, est, en effet, impliqué dans des fonctions physiologiques telles que l'excitation, la transmission de l'influx nerveux, le couple excitation-contraction et la bio-synthèse des membranes cellulaires.

Pour ce qui concerne le Calcium extracellulaire, les travaux de S. Ringer (1-2-3-4) sur les solutions physiologiques ont jeté les bases des études à venir, sur les relations entre les fonctions cellulaires et les composants électrolytiques extracellulaires. Ses études révélèrent, entre autre, l'importance du $Ca\ Cl_2$ dans la réponse aux stimulations électriques et dans la contractilité.

A la suite de S.Ringer, Locke (5) en 1894, trouva que le Calcium était indispensable pour la transmission de l'excitation, du nerf vers le muscle, et Overton (6), lui, montra qu'il était nécessaire à la transmission des stimuli au travers des synapses. Locke et Rosenheim (7) trouvèrent que les mouvements du Calcium étaient en étroite relation avec le couplage bio-énergétique dans le travail mécanique ; c'est en 1927 qu'Heilbraun (8), pour la première fois, introduisit le terme de réaction de "précipitation superficielle" (surface precipitation-reaction) pour décrire les "réparations" des régions cellulaires dégradées.

Il remarqua que si, par un artifice qu'il décrit, on arrive à rompre la membrane d'un protozoaire (le Stentor), celui-ci reforme aussitôt une nouvelle membrane, autour du protoplasme extrudé et nu, mais ceci seulement lorsque l'ion Calcium se trouve dans le milieu extracellulaire ; la même expérience reproduite, en l'absence de

.../...

Calcium ionique, ou avec du Calcium complexé, a permis de montrer que la bioformation d'une nouvelle membrane était totalement inhibée. D'une manière similaire, des oeufs d'oursin, fortement atteints dans leur intégrité, forment, en présence de Calcium ionique, une nouvelle membrane, semblant être en étroite relation avec la rupture de granules provenant d'un pigment intracellulaire.

D'autre part, si des oeufs "d'arbaccia" sont brisés dans de l'eau de mer, exempte de Calcium, aucune "précipitation de surface" ne se développe et les granules pigmentaires restent intacts. Si le Calcium est ajouté dans le milieu, on assiste alors à la rupture des granules et une nouvelle membrane est formée dans la région de la cellule atteinte.

Ces deux phénomènes, s'ils étaient mieux connus, pourraient mener à la connaissance des processus de libération d'hormones ou de substances médiatrices, à partir de vésicules intracellulaires et de formation de membranes cellulaires.

Chambers et Reznikoff (1925) (9) dans leurs travaux sur les effets des cations monovalents et divalents sur l'Amibe ont apporté des renseignements précieux quant à nos connaissances de l'action des cations sur le protoplasme.

Voici quelques-unes des expériences tentées par ces auteurs et qui justifient pleinement l'étude que nous avons entreprise.

Ils ont immergé des Amibes dans des solutions de 0,01 de K Cl ou de Na Cl, et ont constaté qu'il y avait rapidement cessation des courants protoplasmiques et que la mort survenait peu de temps après ; alors que l'Amibe, immergée dans une solution de 0,02 M de $Ca\ Cl_2$ pouvait survivre et se mouvoir pendant plusieurs jours. D'autre part, des microinjections de $Ca\ Cl_2$ à l'intérieur de l'Amibe induisent rapidement une coagulation du cytoplasme.

En démontrant que la membrane agit, en quelque sorte, comme une barrière aux mouvements du Calcium vers l'intérieur de la cellule, Chambers a pu établir l'importance physiologique du Calcium intracellulaire, de même que sa faible concentration. Il a conclu, de ses expériences, que la concentration de Calcium libre dans le milieu endoplasmique de l'Amibe ne peut excéder 2. 10^{-3} M (2 µ-moles/ ml de liquide intracellulaire). Plus tard, Pollack (10), en pratiquant des microinjections dans l'Amibe d'agents complexant ou précipitant le Calcium découvrit la relation existant entre les mouvements du Calcium intracellulaire, et les fonctions cellulaires : une injection d'alizarine sulfonate de Sodium provoquait momentanément une expansion du pseudopode, et suivant ceci, un afflux de granules rouges pourpres.

Ce phénomène implique la fixation de Calcium, libre ou libéré, à partir d'une liaison. A partir de là, la formation du pseudopode naissant arrête son développement, en présence d'un agent complexant, ce qui permet de déduire que les mouvements du Calcium, depuis un site sur un autre site, sont autant d'événements liés à la formation du pseudopode.

Ce sont là des expériences qui ont jeté les bases sur lesquelles un grand nombre de recherches sont actuellement effectuées. Plus récemment, d'autres auteurs (11) ont étudié l'importance de certains métaux, dans les milieux biologiques : entre autre, nous devons mentionner, outre le Sodium et le Calcium, et comme de première importance, tant du point de vue de leur concentration respective que de leur rôle métabolique, le Potassium, le Magnésium, le Zinc ; il est, par ailleurs, intéressant de remarquer leur localisation : alors que la quasi totalité du Sodium et du Potassium se trouve à l'état "libre", il en est tout autrement pour le Magnésium, le Calcium et le Zinc qui se trouvent à l'état lié ou complexé ; on peut alors comprendre, si on considère que les constituants ioniques, prédominant du compartiment extracellulaire, sont le Calcium et le Sodium, l'importance du jeu de leurs concentrations respectives, en présen-

d'ions H^+ et de leur comportement vis à vis des sites protéiques anioniques. Certains auteurs (12-17) ont suggéré que la membrane portait des sites chargés négativement et sur lesquels s'adsorbait le Calcium. D'autres auteurs (17) ont montré que l'adsorption du Calcium sur ces sites induisait des variations de perméabilité aux ions Sodium et Potassium.

Que ce soient les phénomènes de contraction musculaire (18), la déformabilité des érythrocytes, les réactions enzymatiques, la transmission et la propagation de l'influx nerveux ou la perméabilité des membranes, il semble que le mécanisme d'action du Calcium, ainsi que son mode de fixation dans le temps initial, soit toujours le même. Jusque récemment, la nature chimique des sites négatifs était encore ignorée ; il a été montré que la fixation du Calcium par les fantômes d'érythrocytes se faisait surtout sur une fonction acide d'un groupe carboxylique appartenant aux résidus acides aminés des protéines membranaires (19) (20).

II - POSITION du PROBLEME.

L'effet du Calcium sur les propriétés des couches monomoléculaires de polyacide a été étudié dans l'optique particulière suivante : le comportement ionique de ces systèmes pourrait constituer une simulation du comportement ionique au niveau de systèmes biologiques tels que les protéines membranaires. Plusieurs auteurs (12 à 17) ont trouvé que la membrane axonique portait des sites chargés négativement à sa surface et que les variations de la perméabilité aux cations, en présence d'ions Calcium était en relation étroite avec leur adsorption sur ces sites. Leur nature chimique exacte en est encore ignorée; toutefois des études récentes sur l'adsorption des ions Calcium sur fantômes d'érythrocytes ont montré que la plus grande quantité de ces ions était fixée par les groupes carboxyliques des résidus aspartiques et glutamiques des protéines membranaires (19-20)

Les travaux de B. Hille (15 et 21) sur les membranes nerveuses aux noeuds de Ranvier, du nerf sciatique de l'axone de grenouille, ont montré qu'à des variations de pH et de concentration en ions Calcium externe correspondaient des variations de potentiel membranaire et d'une manière générale que les ions divalents et les ions H^+ contrôlaient la perméabilité des ions Sodium et Potassium.

Ce potentiel membranaire serait dû en partie aux charges négatives fixes, portées par l'extérieur de la membrane axonique et susceptibles de fixer des cations divalents, à un degré qui dépend des concentrations du milieu extracellulaire en cations monovalents notamment.

Afin d'étudier les effets de ces paramètres sur les potentiels de membrane, la perméabilité, etc..., il a été nécessaire de trouver et de mettre au point des systèmes simplifiés, parfaitement connus, tant du point de vue chimique que physico-chimique, ce qui n'est pas encore le cas pour les systèmes membranaires biologiques.

.../...

Des gels et des solutions concentrées de polyélectrolytes ont été proposés comme modèle pour simuler les propriétés des membranes biologiques (Ling et Morowetz (22)). Récemment, Jaffé et Coll (23) ont montré l'importance des films ionisés constitués de polypeptides, substance dont le comportement en films étalés rappelle les polyélectrolytes.

L'étude des films de polyélectrolytes chargés présente de nombreux avantages : les méthodes propres aux études superficielles : mesures de pressions, adsorption d'ions marqués, potentiel de surface, permettent une connaissance tant de la structure configurationnelle que de l'interaction avec les petits ions et le milieu support. L'interprétation des résultats est simplifiée puisque les phénomènes se produisent dans un milieu à deux dimensions et que la répartition des charges se fait dans le plan de l'interface bien défini.

Dans le présent travail, nous avons étudié un système constitué de couches d'un copolymère acide maléique - éther cétylvinylique, le P.S. 16, étalé à la surface de solutions aqueuses, à divers pH, forces ioniques et concentrations en ions Calcium. Outre les mesures directes de pressions superficielles et la fixation du Calcium, en fonction des divers paramètres, nous avons étudié les relations entre fixation du Calcium et potentiel de surface.

Les résultats ont montré que la couche du P.S. 16 étalé à la surface d'un support aqueux est solide, elle est indépendante du pH et de la concentration en Calcium et, de plus, aux pressions faibles, on constate qu'il y a formation d'agrégats. Cette structure est déterminée par les interactions de Van der Waals entre les parties non polaires, interactions qui dominent devant celles de type électrostatique (dépendant de l'ionisation) et qui semblent négligeables.

.../...

L'effet du pH et de la force ionique sur la fixation du Calcium suggère un processus d'échange entre les ions Sodium et Calcium, en relation avec l'ionisation des groupes carboxyliques du P.S. 16.

Afin d'expliciter le processus d'échange d'ions et le mode de fixation du Calcium, nous comparons nos résultats avec ceux de Madame C. Thomas, qui a étudié le potentiel de surface des couches de P.S. 16, dans les mêmes conditions que celles de ce travail. Elle a montré qu'en l'absence de Calcium, le degré de dissociation pouvait se calculer à partir du potentiel de surface et qu'il existe une relation simple entre les variations de ce dernier et celles de l'énergie libre électrostatique associée aux processus de charge des ions carboxylates au cours de la dissociation ; de plus, le potentiel de surface mesuré est fonction de la concentration en ions Calcium.

Nous montrons, dans ce travail, que, si le taux de fixation du Calcium n'est pas une mesure directe du degré d'ionisation du P.S. 16, il en est néanmoins fonction et correspond à un processus d'échange d'un Calcium pour un Sodium. L'énergie libre électrostatique de cette réaction contribue à la différence de potentiel électrique entre le film et le substrat.
En conséquence, les variations du potentiel de surface mesurées permettent d'atteindre des variations de l'énergie libre électrostatique associée à ce processus d'échange.

III - DEFINITIONS - RAPPELS.

1 - La tension superficielle.

L'expérience montre que toute surface liquide tend spontanément à prendre une aire minimale (qui correspond à son état d'énergie libre minimale) pour un volume donné. Considérons une molécule dans le sein d'un liquide : elle est entourée de molécules qui l'attirent dans toutes les directions (la résultante de toutes ces attractions est donc nulle). Considérons ensuite une molécule très voisine de la surface du liquide, les molécules qui l'attirent vers le sein du liquide sont moins nombreuses ; il faut donc fournir un travail pour amener une molécule du sein du liquide vers sa surface.

Lorsqu'on étend la surface d'un liquide, il faut fournir un travail pour compenser la différence d'énergie entre les molécules superficielles et celles du sein du liquide.

Supposons qu'on augmente la surface d'un liquide d'une quantité dS, le travail fourni, dW est proportionnel à dS, soit :

$$[1] \qquad dW = \gamma \, dS$$

où γ est un coefficient de proportionnalité, appelé la "tension superficielle" du liquide. On considère que le coefficient γ est constant si la masse du liquide est suffisante. Dans ce cas, les molécules subissent à l'intérieur de celui-ci une attraction uniforme dans toutes les directions et le travail à fournir pour amener les molécules de l'intérieur vers la surface est le même en chaque point.

Au contraire, si la masse du liquide est par trop petite et, par conséquent, les forces d'attraction non uniformes, le travail à fournir est moindre, il en résulte une diminution de γ ; la diminution des forces moléculaires en fonction de la distance étant

.../...

très rapide, pratiquement, on trouve que la tension superficielle est constante car la masse du liquide considérée est toujours suffisante.

La tension superficielle, γ , est toujours positive, elle représente le quotient d'une énergie libre ou travail par une surface et est exprimée dans le système C.G.S. en erg. cm^{-2}. Une autre définition, décrite ci-après, est souvent utilisée, γ est exprimé en dyne. cm^{-1}.

Soit une petite surface dS rectangulaire, de longueur égale à ℓ et de largeur égale à dx. Le travail correspondant est :

$$[2] \quad dw = \gamma . \ell \, dx = F . dx$$

$$[3] \quad \text{où} \quad F = \frac{dw}{dx} = \gamma . \ell$$

Le rapport d'un travail à un déplacement est une force. La tension superficielle apparaît comme le coefficient $\frac{F}{\ell}$, soit une force par unité de longueur, exprimée dans le système C.G.S. en dyne . cm^{-1}

Nous avons défini la tension superficielle, γ , pour une interface liquide-vapeur. Toutefois, la présence de l'air (aux pressions usuelles) ne la modifie quasiment pas.

2 - La pression superficielle.

Plaçons à la surface de l'eau ou d'une solution aqueuse, contenue dans une cuve en téflon, une barrière mobile B, non mouillable, séparant la surface du liquide en deux compartiments A et A' (Fig. 1). Touchons la surface du compartiment A' avec un fil de platine ayant plongé, par exemple, dans l'acide oléique, substance

organique, polaire, non volatile et pratiquement insoluble dans le support aqueux. L'acide oléique s'étend en une couche très mince, appelée couche d'étalement, à la surface du support A', en poussant la barrière B vers A ; cette poussée est appelée pression superficielle π. (24).

Depuis Lord Rayleigh (25), on sait que les couches superficielles d'étalement abaissent la tension superficielle. Il est facile de démontrer que cet abaissement de la tension superficielle de l'eau est égal à la pression superficielle de la couche étalée à sa surface.

Soit γ_o la tension superficielle de l'eau superficiellement propre, en A, γ, ($\gamma < \gamma_o$) la tension superficielle de l'eau recouverte du film d'étalement en A' et ℓ, la largeur intérieure de la cuve (fig 1). Déplaçons la barrière B de Δx vers A', en exerçant

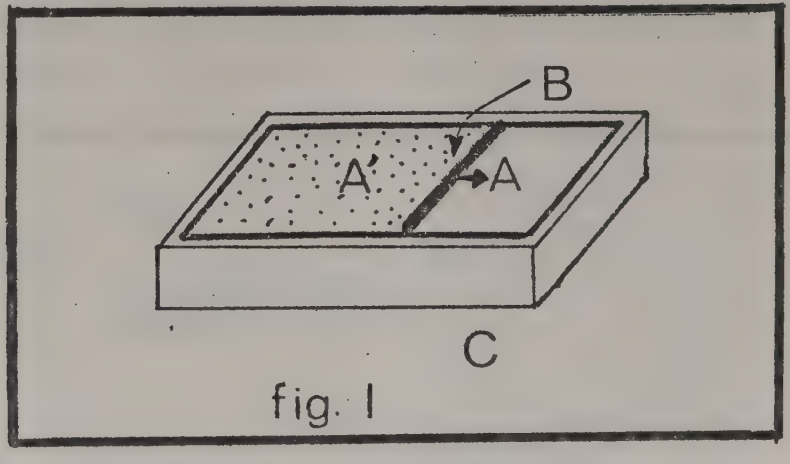


fig. 1

une force F, le travail fourni par l'opérateur est :

$$\left[4\right] \qquad \Delta W = F\,\Delta x$$

la surface en A, augmente de $\ell\,\Delta x$, ce qui équivaut à un travail de surface $\gamma o\,\ell\,\Delta x$; la surface du film en A' diminue de la même quantité et le travail de surface correspondant est $\gamma\,\ell\,\Delta x$; le travail net reçu par le système est égal à :

.../...

$$[5] \qquad \Delta W = \gamma_o \, \ell \, \Delta x - \gamma \, \ell \, \Delta x = (\gamma_o - \gamma) \, \ell \, \Delta x$$

On déduit de [4] et [5]

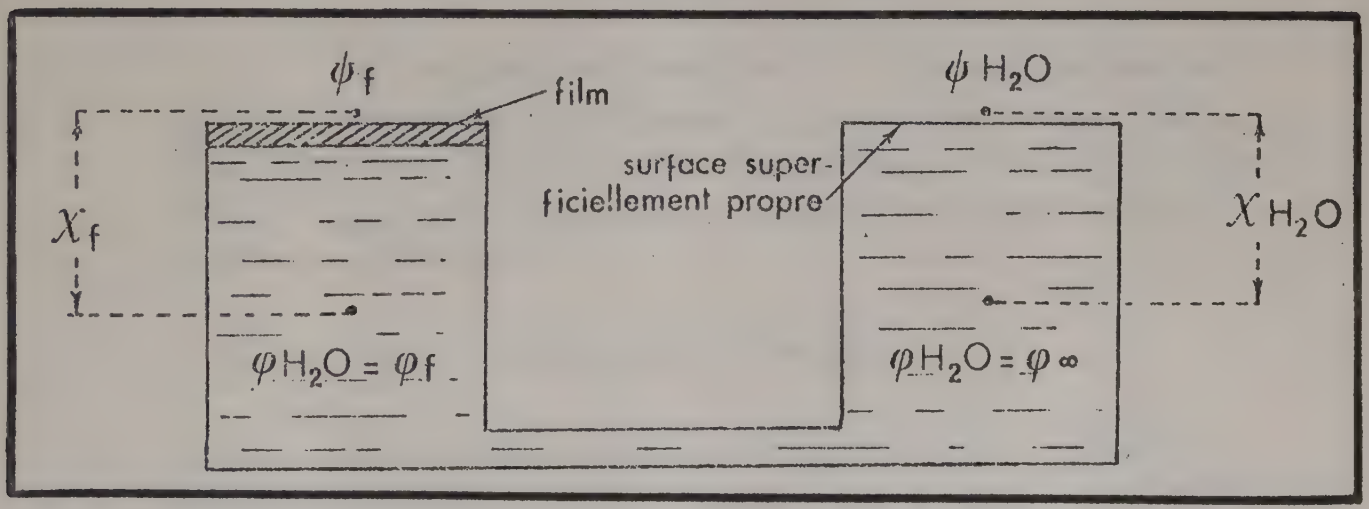
$$[6] \qquad F = (\gamma_o - \gamma) \, \ell$$

Tout se passe comme si le film exerçait une force $F = (\gamma_o - \gamma) \, \ell$. En physique des surfaces, on désigne le quotient $\frac{F}{\ell}$ par le terme de "pression superficielle" π. La pression superficielle est exprimée dans le système C.G.S. en dyne . cm^{-1}.

3 - Le potentiel de surface.

a - Définitions :

La présence d'un film étalé à la surface d'une solution aqueuse fait varier la différence de potentiel entre la solution et le milieu extérieur, c'est cette différence de potentiel que l'on appelle "potentiel de surface ΔV ". (fig 2).



Soit : $\chi_{H_2O} = \phi_{H_2O} - \psi_{H_2O}$

La différence, en l'absence de film, entre ψ_{H_2O}, le potentiel électrique extérieur et mesurable directement, pris en un point situé dans l'air près de la surface par rapport à une référence prise dans l'air également et ϕ_{H_2O}, le potentiel électrique interne, pris en un point situé au sein de la phase aqueuse par rapport à une référence prise dans la phase aqueuse également (ici $\phi_{H_2O} = \phi_\infty$ dans l'eau), et soit $\chi_f = \phi_f - \psi_f$, la même différence que précédemment, mais en présence d'un film (ici $\phi_f = \phi_\infty$ dans l'eau), on peut écrire que :

$$\Delta V = \chi_f - \chi_{H_2O}$$

et puisque

$$\phi_{H_2O} = \phi_f = \phi_\infty \qquad \text{dans l'eau}$$

le potentiel électrique défini plus haut est donc :

$$\Delta V = \chi_f - \chi_{H_2O} = \psi_{H_2O} - \psi_f$$

En pratique, pour atteindre ΔV, le potentiel de surface, il suffit de mesurer la différence de potentiel entre deux points, l'un situé dans l'air très près de la surface de l'eau, en l'absence de film, et l'autre dans l'air, très près de la surface de l'eau, mais avec un film étalé.

b - Le film et son potentiel de surface.

Le potentiel de surface, défini plus haut, est égal au travail d'une charge unité, se déplaçant du sein de la solution vers l'interface, à travers la région occupée par les dipôles permanents et tous les sites chargés du film.

Cette variation de potentiel provient de deux contributions :

1) Une contribution $\Delta\eta_f$ due à la distribution et à l'orientation des dipôles du film et à la réorientation des dipôles de l'eau.
2) Une contribution ϕ_o due à la densité de charge superficielle nette dans le plan x = 0 des charges fixes du film et à la distribution des contre-ions et des co-ions dans le champ créé par ces charges nettes.

Le calcul de cette dernière contribution a été étudié par de nombreux auteurs, avec diverses approximations. En particulier, Gouy (26) a calculé le potentiel d'une couche diffuse de contre-ions créé par une répartition uniforme de charges sur un plan. Par résolution de l'équation de Poisson - Boltzmann, il trouve au plan x = 0, avec une densité de charge σ :

[7] $$\phi_o = \frac{2kT}{e} \sinh^{-1}\left\{ \sigma \left(\frac{10^3 . \pi}{2\, \varepsilon c k T} \right)^{1/2} \right\}$$

où c est la force ionique de la solution, ε la constante diélectrique du milieu, σ, le nombre de charges par cm^2.

4 - Equilibres et Constantes d'équilibre.

Considérons la réaction :

$$a\,A + b\,B \underset{}{\overset{(1)}{\rightleftharpoons}} l\,L + m\,M$$

elle est susceptible d'atteindre un état d'équilibre à température et pression données.

Nous considérons pour ce système deux cas possibles :

.../...

1er Cas : les particules sont indépendantes les'unes des autres (gaz parfaits, solutions diluées,...) à température et pressions constantes, la variation d'enthalpie libre, de la réaction spontanée dans le sens (1), est égale à :

$$\Delta G = \Delta G^\circ + R\,T\,\mathrm{Log}\,\frac{[L]^l \cdot [M]^m}{[A]^a \cdot [B]^b}$$

à l'équilibre $\Delta G = 0$, et le terme $\frac{[L]^l \cdot [M]^m}{[A]^a \cdot [B]^b}$ fonction des concentrations, est une constante ne dépendant que de la température et de la nature des constituants , comme ΔG°, différence entre les enthalpies libres standard entre les espèces du deuxième et du premier membre. Ce terme est la constante thermodynamique de l'équilibre :

$$Ko = e^{-\frac{\Delta G^\circ}{R\,T}}$$

il lui correspond un $pKo = -\log Ko = \Delta G^\circ / 2{,}3\,R\,T$

2ème Cas : les particules ont des interactions entre elles (par exemple les solutions d'électrolytes). On a coutume alors d'exprimer ΔG en fonction des activités des constituants.

$$\Delta G = \Delta G^\circ + R\,T\,\mathrm{Log}\,\frac{a_L^{\,l} \cdot a_M^{\,m}}{a_A^{\,a} \cdot a_B^{\,b}}$$

avec $a_I = f_I [I]$ pour le constituant I
f_I étant alors son coefficient d'activité dans le système, on peut écrire alors :

$$\Delta G = \Delta G^\circ + R\,T\,\mathrm{Log}\,\frac{[L]^l \cdot [M]^m}{[A]^a \cdot [B]^b} + R\,T\,\mathrm{Log}\,\frac{\gamma_L^{\,l} \cdot \gamma_M^{\,m}}{\gamma_A^{\,a} \cdot \gamma_B^{\,b}}$$

.../...

le terme $R\,T\,\text{Log}\,\frac{\gamma_L^{\,l}\,.\,\gamma_M^{\,m}}{\gamma_A^{\,a}\,.\,\gamma_B^{\,b}}$ apparaît alors comme une variation d'enthalpie libre d'excès par rapport à la variation que cette fonction thermodynamique aurait en l'absence d'interactions entre particules. On peut écrire :

$$[8]\quad \Delta G = \Delta G^\circ + R\,T\,\text{Log}\,\frac{[L]^l\,.\,[M]^m}{[A]^a\,.\,[B]^b} + \overline{\Delta G}_{\text{excès}}.$$

A l'équilibre, la constante thermodynamique est toujours :

$$[9]\quad Ko = e^{-\frac{\Delta G^\circ}{R\,T}}$$

Mais on peut définir une constante apparente d'équilibre plus accessible à l'expérimentation :

$$[10]\quad K\text{ apparent} = \frac{[L]^l\,.\,[M]^m}{[A]^a\,.\,[B]^b} = e^{-\frac{\Delta G^\circ}{R\,T}}\,.\,e^{-\frac{\overline{\Delta G}_{\text{excès}}}{R\,T}}$$

$$= Ko\,.\,e^{-\frac{\overline{\Delta G}_{\text{excès}}}{R\,T}}$$

En réalité, K app n'est pas une constante et varie avec le terme, $e^{-\frac{\overline{\Delta G}_{\text{excès}}}{R\,T}}$, qui dépend des interactions entre particules, et, par suite, de leurs concentrations.

$$[11]\quad \text{On définit : } p\,K\,app = \log\frac{1}{K\,app} = p\,Ko + \frac{\overline{\Delta G}_{\text{excès}}}{2{,}3\,R\,T}$$

p Ko est appelé parfois (en particulier dans l'équilibre de dissociation d'un polyélectrolyte) pK intrinsèque ; pKo correspond à la constante thermodynamique de l'équilibre de dissociation d'un groupe chargé, supposé isolé, sans interaction avec les autres particules.

IV - TECHNIQUES - METHODES de MESURE - APPAREILLAGE.

Les films du polyélectrolyte P.S. 16 ont été étudiés, essentiellement, pour trois types de mesure basées sur les techniques de la chimie des surfaces, à savoir :

- les mesures de tension superficielle.
- les mesures d'adsorption du Calcium 45, émetteur de rayonnement β^-.
- les mesures de potentiel de surface [Etude effectuée par Madame C. Thomas.]

1. La Tension superficielle.

La tension superficielle est mesurée selon la méthode de Wilhelmy (27), soit la méthode statique de la lame immergée.

- a - Principe de la méthode : (fig. 3).

Considérons une lame mince, verticale, suspendue au plateau d'une balance maintenue à l'équilibre la force de traction F du fil supportant la lame L, est égale et de signe opposé au poids, Mg, de la lame, soit :

$$F = - Mg$$

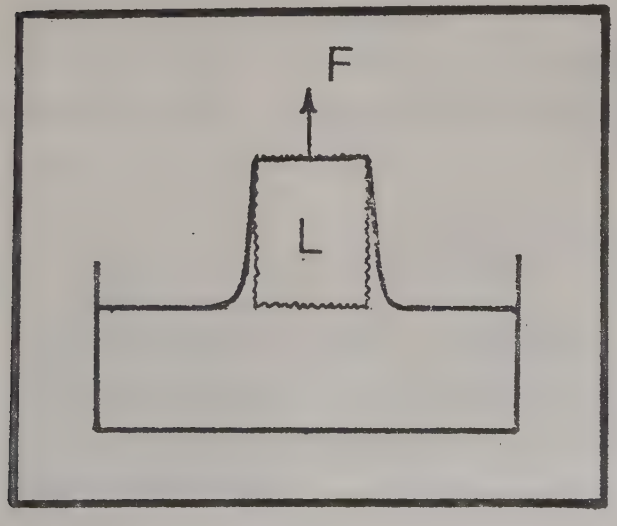


FIG 3.

Faisons maintenant affleurer à la lame la surface d'un liquide contenu dans un cristallisoir en soulevant progressivement celui-ci jusqu'à ce que le contact entre la lame et le liquide soit réalisé. L'équilibre est rompu entre les forces superficielles et, pour le rétablir, il faut que force de traction exercée sur le fil varie d'une quantité ΔF. Après contact l'équilibre s'écrit :

$$[13] \quad F' = - Mg + \text{poussée d'Archimède} - mg$$

où mg est le poids du ménisque du liquide soulevé. En supposant la poussée d'Archimède nulle quand la lame est à l'affleurement :

$$[14] \quad F' = - Mg - mg$$

et

$$[15] \quad \Delta F = F' - F = - mg$$

Par ailleurs, on peut évaluer la force F' comme suit : si on soulève la lame de dx centimètres, le travail effectué est :

$$[16] \quad dW = F' \, dx$$

Ce travail sert :

- à agir contre la pesanteur, en soulevant la lame mais non le ménisque qui n'a pas bougé.
- à sortir la lame sur une surface p dx, p étant le périmètre de la lame, compte tenu de son épaisseur e, comprise dans le terme ℓ, on a :

$$[16 \text{ bis}] \quad p = 2\ell \quad (\ell \text{ largeur de la lame})$$

Considérons la figure 4 ; appelons $\gamma_{s/G}$ la tension superficielle solide/gaz, $\gamma_{s/L}$ la tension superficielle solide/liquide et $\gamma_{G/L}$ la tension superficielle gaz/liquide ; à l'équilibre, on doit avoir au point A :

.../...

$$\gamma_{s/G} - (\gamma_{s/L} + \gamma_{G/L} \cos \theta) = 0$$

pour sortir une lame de longueur 2ℓ et de hauteur dx, il faudra fournir un travail :

$$2\ell (\gamma_{s/G} - \gamma_{s/L}) \, dx = 2\ell \, \gamma_{G/L} \cos \theta \, dx.$$

Si ΔF représente la force exercée pour maîntenir la lame à l'affleurement, sachant que le travail pour déplacer cette même lame d'une ahuteur dx est $\Delta W = \Delta F \, dx$, on tire :

$$\Delta F = 2\ell \gamma \cos \theta$$

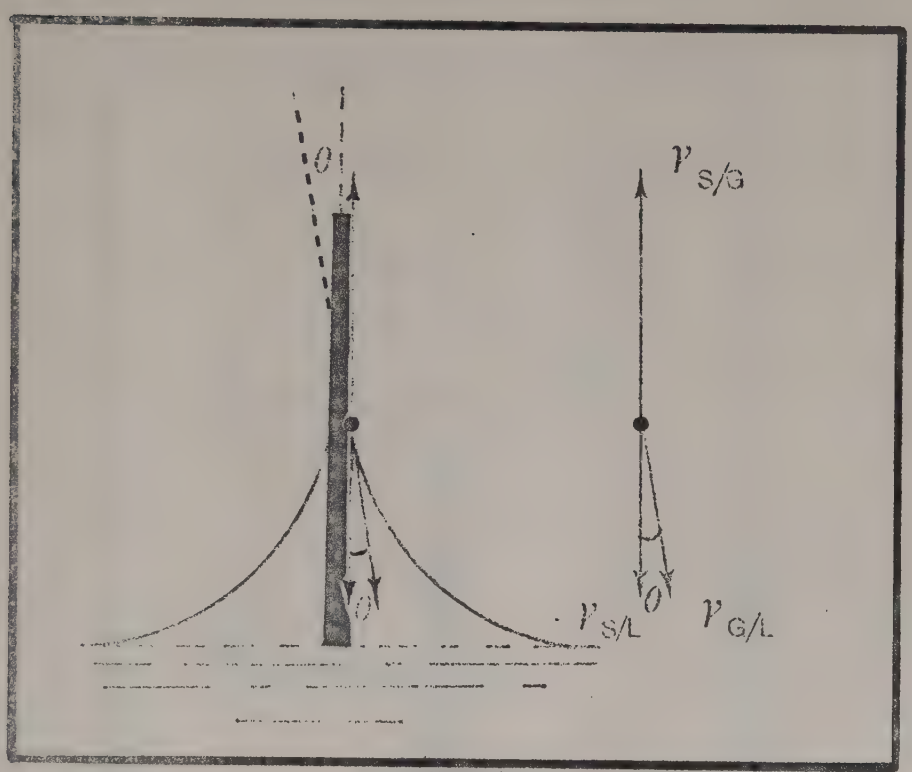


FIG 4.

où θ est l'angle formé entre le ménisque du liquide et la lame. Lorsque la lame est parfaitement mouillable $\theta = 0$ et $\cos \theta = 1$.

$$[18] \quad \text{soit} \quad \Delta F = 2\ell\gamma \quad \text{et} \quad \gamma = \frac{\Delta F}{2\ell}$$

.../...

Si $\theta = 0$, la méthode de la lame immergée est précise et rapide. Son caractère statique permet de suivre l'évolution dans le temps de la tension superficielle d'une solution donnée, simplement en rétablissant l'équilibre au fur et à mesure qu'il se modifie.

-b- Appareillage

Nous avons utilisé deux types d'appareils, basés sur le principe décrit ci-dessus :

- Le tensiomètre de "Dognon et Abribat".

Ce tensiomètre fonctionne comme une balance de zéro.(fig.5)

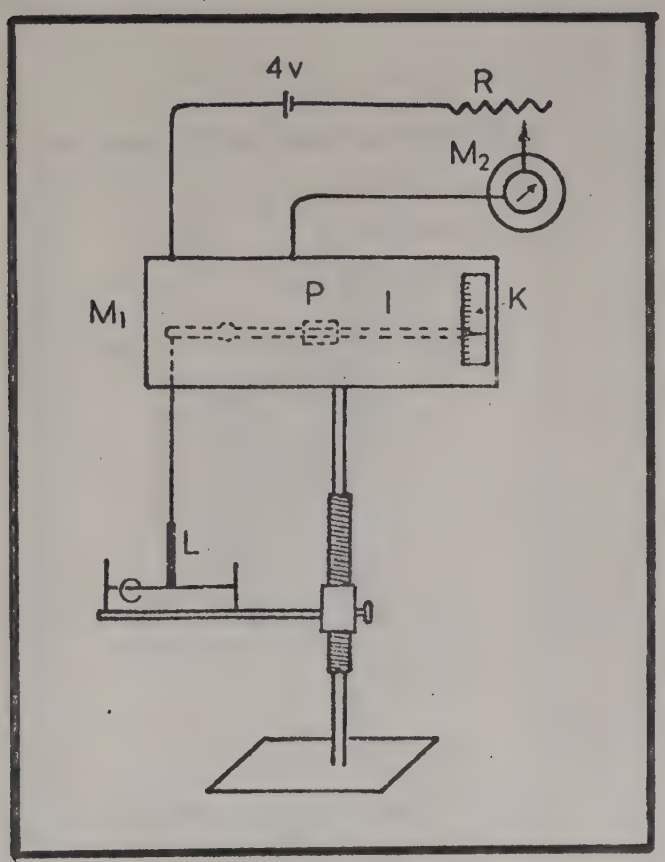


FIG 5.

.../...

Il permet d'équilibrer, par une force d'origine mécanique, la force F qui agit sur la lame. Avant la mesure, la lame sèche est suspendue, comme à un fléau de balance, à l'aiguille horizontale d'un milliampèremètre M_1, que l'on ramène à la position horizontale, à l'aide d'un contrepoids P. En soulevant le récipient contenant le liquide à étudier, on ramène la surface de celui-ci au contact de la lame L. Celle-ci est happée par le liquide, l'équilibre de la balance est alors rompu , on ramène l'aiguille à sa position horizontale de zéro, en modifiant à l'aide du potentiomètre R le courant qui passe par le milliampèremètre M_1 ; au moyen d'un deuxième milliampéremètre M_2, on mesure l'intensité de ce courant (qui est proportionnel à la valeur de la force F). Il suffit, pour avoir une lecture directe de F , d'étalonner le milliampèremètre M_2 en milligrammes.

- Le capteur de tension "Sanborn". (fig 6).

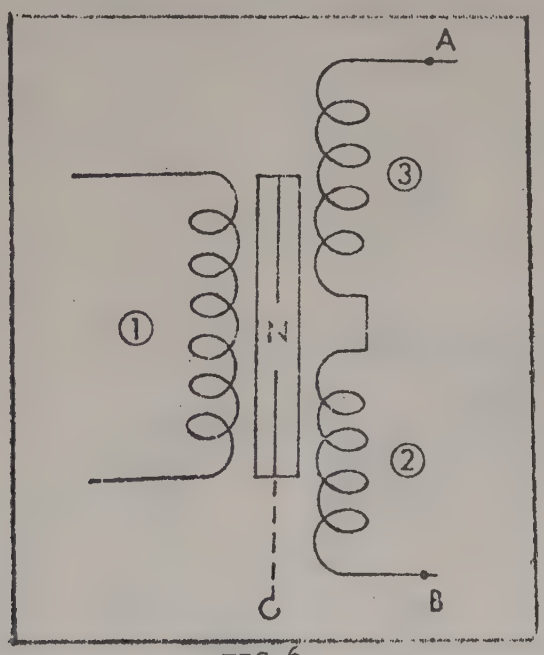


FIG 6.

Le dispositif de mesure est un transformateur linéaire ; il comporte deux courants électriques, reliés magnétiquement. Le circuit (1) est parcouru par un courant alternatif. En l'absence de force appliquée, les constantes de couplage entre les selfs (1) et (2),

.../...

d'une part, et (1) et (3), d'autre part, sont identiques. Les selfs (2) et (3) sont montés en série-opposition ; la différence de potentiel entre les points A et B est nulle. Lorsque le noyau de fer doux N se déplace verticalement, (sous l'action d'une force F), les constantes de couplage ne sont plus égales entre elles et il apparaît une différence de potentiel entre les points A et B. Cette différence de potentiel, (amplifiée par un amplificateur qui fournit également le courant du circuit primaire (1)) est envoyée vers un enregistreur potentiométrique. La force F qui agit sur la lame suspendue au capteur en C, lorsque la lame se trouve au contact de la solution, se traduit par un déplacement du stylet de l'enregistreur, proportionnel à la force F. L'étalonnage préalable du déplacement au moyen de différentes charges suspendues au capteur de tension permet une lecture directe de la force F. La précision des mesures de tension superficielle effectuée au moyen des appareils décrits est de l'ordre de 0,1 dyne. cm^{-1}.

2 - La pression superficielle - Isotherme.

La variation de la pression superficielle d'une substance étalée à la surface d'un support aqueux, en fonction de sa densité superficielle, peut être obtenue soit :

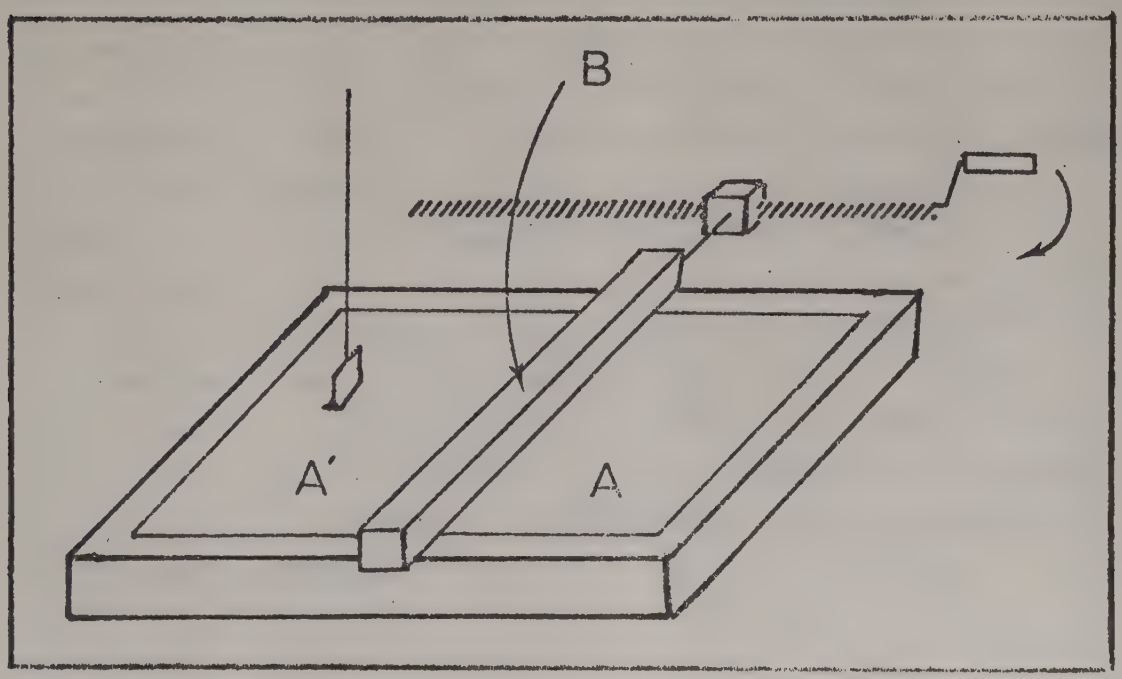


FIG. 7

- par compression d'une quantité connue du produit étalé sur le support aqueux, contenu dans une cuve de type Langmuir (28).

dans ce cas, la quantité de produit ne varie pas durant l'expérience tandis que la surface d'étalement diminue. [Technique I] (fig. 7)

Soit :

- par étalements successifs de quantités connues du produit sur le support contenu dans un récipient tel qu'un cristallisoir ou une boîte de Pétri ; selon cette méthode, la quantité de produit étalé augmente au cours de l'expérience, tandis que la surface d'étalement reste constante. [Technique II.] .

Nous avons opéré selon ces deux techniques .

- a - Compression [Technique I.]

Un volume déterminé d'une solution de P.S. 16, de concentration connue, est déposé au moyen d'une microseringue "Agla" à la surface S d'un support aqueux, débarassé de toutes impuretés contenu dans une cuve du type de Langmuir.

Le P.S. 16 est dissout dans un solvant organique volatil et non miscible à l'eau. L'erreur commise sur le volume étalé est de $\pm$ 0,2 µl. La surface initiale d'étalement est de 221 cm^2. Après l'évaporation du solvant, le film est comprimé au moyen d'une barrière non mouillable aménagée sur la cuve (fig. 7). Le déplacement de la barrière de 1 cm correspond à une réduction de l'aire initiale d'étalement, égale à 1 cm x largeur de la cuve. On mesure la variation de la tension superficielle pour chaque diminution de l'aire d'étalement ou augmentation de la densité superficielle, résultant de chaque déplacement de la barrière. Lorsque l'on porte les valeurs de $\pi = \gamma_o - \gamma$ en fonction de l'aire moléculaire σ, (ou en fonction de δ, densités superficielles), on obtient des isothermes du type reproduit dans les figures 8 ci-dessous.

.../...

L'aire moléculaire σ est à chaque instant égale à la surface abandonnée au film, divisée par le nombre total de molécules du produit déposé. Tandis que la densité superficielle δ est égale, à chaque instant, au nombre total de molécules de produit déposé, rapporté à la surface totale abandonnée au film.

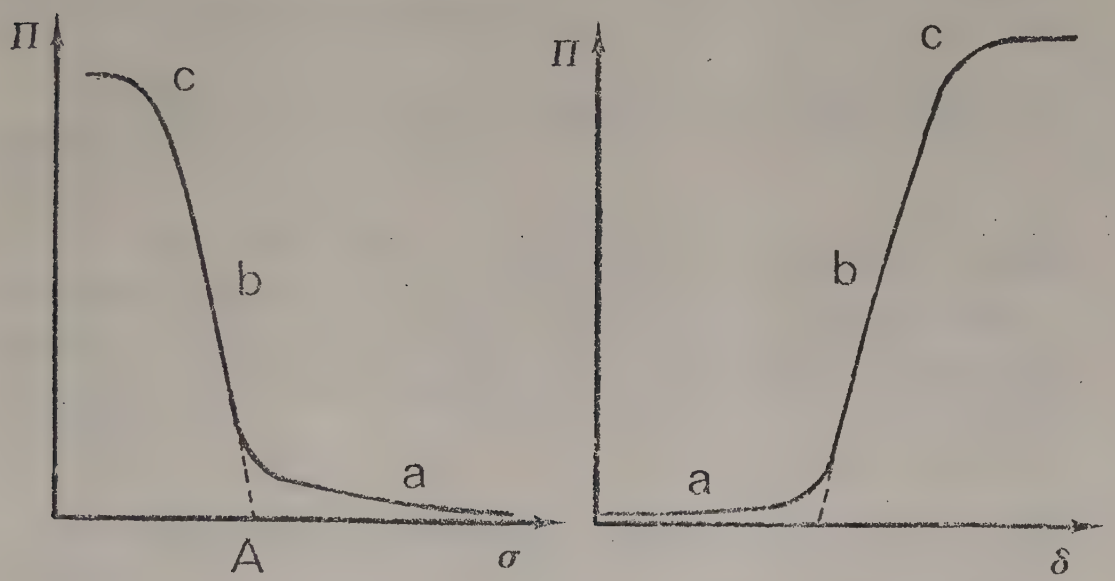


FIG 8a et 8 b

Fig. 8a : Variation de la pression superficielle π , en fonction de l'aire moléculaire σ.

Fig. 8b : Variation de la pression superficielle π, en fonction de la densité superficielle δ.

On obtient des isothermes du même type lorsqu'on procède selon la deuxième méthode.

.../...

b - Etalements successifs [Technique II.]

Lorsque l'on procède selon cette technique, on peut soit opérer par additions successives du produit, sur un même support, soit déposer des quantités différentes du produit, sur le support, chaque fois renouvelé.

Dans le premier cas, on attend l'évaporation du solvant après chaque dépôt d'un volume connu de la solution du P.S. 16 et on mesure l'abaissement de la tension superficielle correspondant à la nouvelle densité superficielle.

Dans le deuxième cas, on mesure l'abaissement de la tension superficielle de chaque système.

Nous avons appliqué les deux modes opératoires. La surface d'étalement, dans les deux cas, est égale à 73 cm^2. Les différents domaines a, b, c, de chacune des deux courbes représentées dans les figures 8a et 8b, correspondent à des états physiques différents du film étalé.

Dans le domaine a, les aires moléculaires σ sont élevées - figure 8a - (les densités superficielles δ sont faibles - figure 8b). La pression superficielle π ne varie quasiment pas, elle est inférieure à 1 dyne. cm^{-1}. (Tout au moins dans les limites de sensibilité de l'appareillage).

A partir d'une certaine valeur de σ, pour une diminution relativement faible de l'aire moléculaire (ou : à partir d'une certaine valeur de δ, pour une augmentation relativement faible de la densité superficielle), on observe une variation importante de π, (c'est le domaine b) jusqu'à une valeur maximale, à partir de laquelle π ne varie plus, tandis que σ continue de diminuer (ou δ continue d'augmenter).

Dans la region a, le film forme déjà des agrégats comme le démontrera, plus loin, l'étude de l'état du film de P.S. 16,

.../...

en fonction de sa densité superficielle δ ; ces agrégats occupent une partie de la surface qui leur est offerte et se répartissent par "ilôts" plus ou moins indépendants les uns des autres. Au fur et à mesure que δ croît, ces "ilôts" tendent à se rapprocher jusqu'à n'être plus indépendants les uns des autres (b) ; l'aire moléculaire du point A, extrapolation de l'intersection de la pente a et de la pente b, sur l'abscisse, est appelée aire critique. A partir de l'aire critique, une faible diminution de σ , ou augmentation de δ, entraîne une augmentation importante de π.

Dans la région c, la pression superficielle ne varie que peu. Le film passe de l'état monomoléculaire condensé à l'état plurimoléculaire. On appelle la pression correspondante pression d'affaissement.

3 - L'Adsorption d'un élément marqué par un film insoluble (28)

Cette technique est basée sur l'utilisation d'un radioélément, émetteur d'un rayonnement mou, α ou β, présent dans le substrat sur lequel on étale le film insoluble. Le parcours des particules dans l'eau doit être suffisamment faible pour que la contribution de l'activité provenant du sein de la solution A_o soit négligeable ou, au plus, comparable à l'activité provenant de la surface, A_f, due à l'adsorption de l'élément par le film étalé.

L'énergie des particules β^- émises par le Calcium 45 (0,254 MeV), utilisé dans notre étude et le parcours moyen des particules dans l'eau (650 μ) satisfont aux conditions requises.

.../...

a - Mode opératoire (Fig. 9)

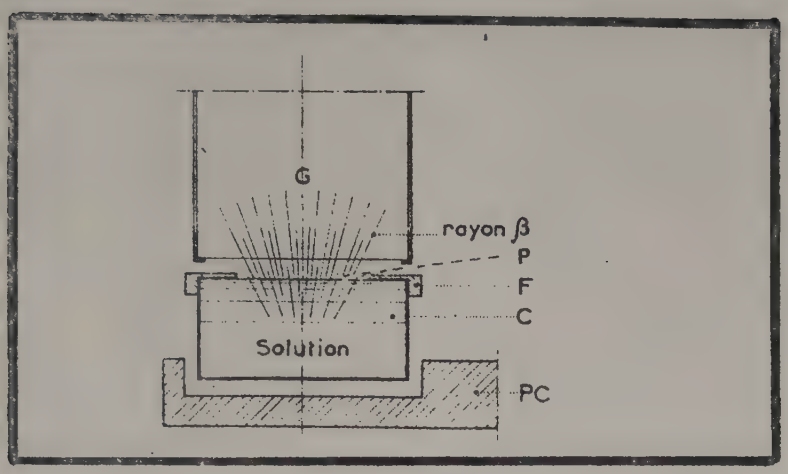


FIG 9.

Le film de P.S. 16 (P) est étalé sur une solution aqueuse de Calcium 45 contenue dans un cristallisoir (C) de surface d'étalement de 10 cm^2, on recouvre le cristallisoir d'un cache en teflon (F), percé d'un orifice calibré de diamètre inférieur à celui de la fenêtre du compteur-cloche G.M., détecteur de rayonnement β.

On pose l'ensemble sur un porte cristallisoir (P.C.) aménagé dans une chambre thermostatée et saturée de vapeur d'eau. Au moyen d'une crémaillère, on peut descendre le détecteur jusqu'au contact du cache en teflon (T). En procédant au remplissage des cristallisoirs de manière identique pour toutes les expériences et de par le dispositif expérimental que nous venons de décrire, les conditions géométriques de mesure sont toujours les mêmes. La surface libre de la solution est égale à 7 cm^2 et la distance entre la fenêtre du compteur et la surface de la solution est de l'ordre de 1 mm.

.../...

Le compteur G.M. est relié à une échelle de comptage. L'intensité du rayonnement mesuré, A_t, est la somme de deux termes (fig. 10a).

- A_o, soit l'activité du rayonnement émis par le sein de la solution

- A_f, soit l'activité du rayonnement provenant des ions Calcium 45 adsorbé par le film de P.S. 16 étalé.

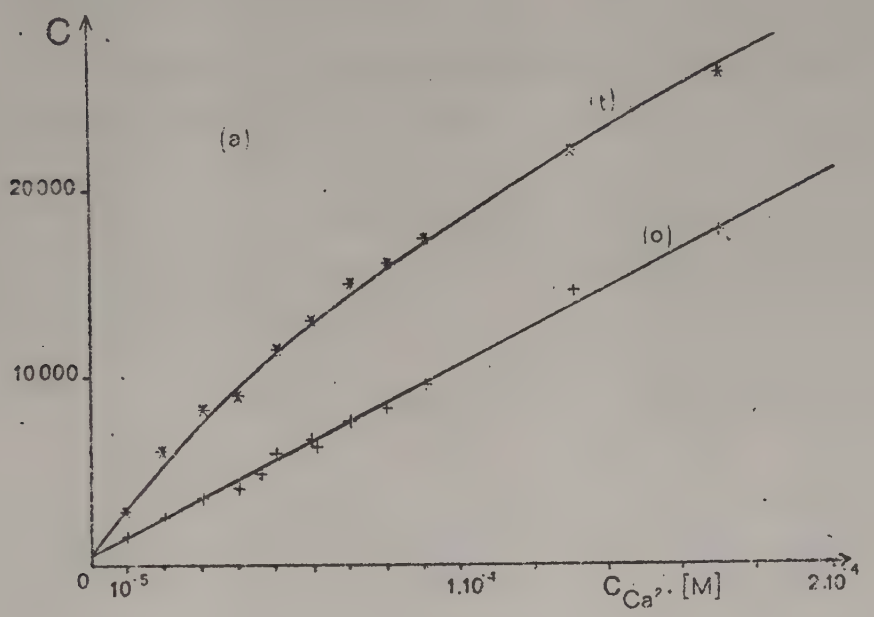


FIG. 10a

Fig 10a : Effet de la concentration des ions Calcium marqués dans le sein de la solution, sur le comptage en présence et en l'absence de film de P.S. 16 (a)

(o) : comptage en absence de film ; (t) : comptage total en présence de film de P.S. 16 ; $C_{Ca^{++}}$: concentration en ions Calcium dans le substrat. pH 8 Tampon phosphate . $C_{Na^+} = 6{,}6\ 10^{-3}$ N.

.../...

b - Détermination de A_o et A_f.

Détermination de A_o

On mesure l'intensité du rayonnement émis par une solution aqueuse de Calcium 45, de concentration et d'activité spécifique connues, A_o.

Détermination de A_f

On mesure l'intensité du rayonnement émis par la même solution de Calcium 45, en présence d'un film de P.S. 16, A_t.

L'activité du rayonnement provenant des ions Calcium adsorbés par le film, A_f, peut être déterminée à partir des deux mesures précédentes :

$$A_f = A_t - A_o \qquad \text{(figure 10b)}$$

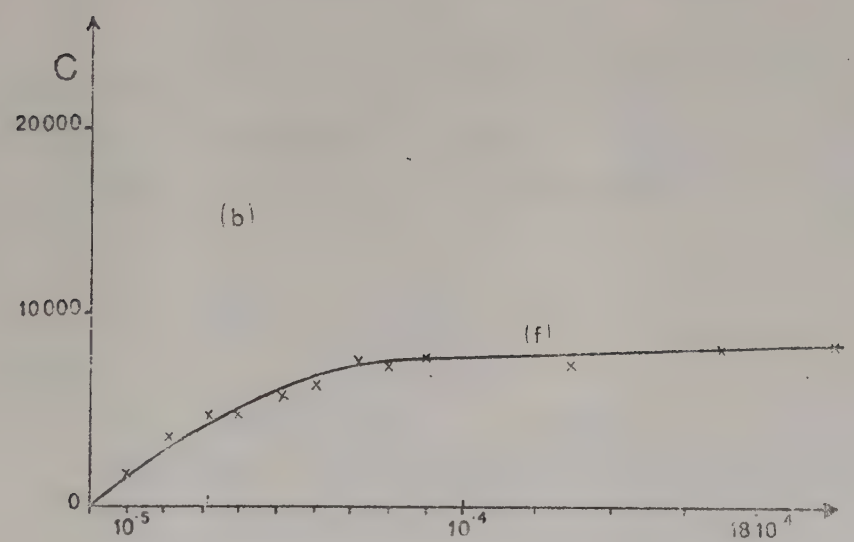


FIG 10b.

Fig 10b : (f) : comptage dû aux ions calcium fixés sur le film de P.S. 16 ; $C_{Ca^{++}}$: concentration en ions Calcium dans le substrat. pH 8 Tampon phosphate.
$C_{Na^+} = 6{,}6\ 10^{-3}$ N.

.../...

A titre d'exemple, les mesures de A_o, de A_t et les valeurs correspondantes de A_f, pour un film de P.S. 16 de densité superficielle déterminée, en fonction de la concentration en ions Calcium de la solution sous-jacente d'activité spécifique connue, sont représentées dans la figure 10a ; on voit,que pour une activité spécifique donnée, A_o est proportionnel à la concentration des ions Calcium en solutions $\left[\overline{a},\ (o)\right]$ .Un étalonnage préalable est nécessaire afin de convertir A_f en nombre d'ions Calcium fixés par le film étalé. Pour ce faire, on dépose une quantité déterminée d'une solution de Calcium 45, de concentration et d'activité spécifique connues, sur une surface solide de même dimension que la surface libre du substrat. Les conditions géométriques de mesure du rayonnement sont décrites en (a). A partir de l'activité mesurée,(valable pour le nombre d'ions Calcium déposés, d'activité spécifique connue) et de A_f on peut déduire le nombre d'ions Calcium fixés par le film. Notons également qu'il est important de fixer l'activité spécifique et le domaine de concentration des solutions utilisées, tel que A_f soit suffisant pour être mesuré avec précision, par rapport à A_o.

Lorsque la concentration augmente, la valeur de A_o augmente également et le précision des mesures diminue. Il est aisé dans le domaine des concentrations élevées de ramener par dilution isotopique les valeurs de A_f et A_o aux limites requises pour la précision des mesures.

c - Dilution isotopique.

Soient :

C^*, la concentration, V^* le volume, ρ_1 l'activité spécifique d'une solution de Calcium marqué (I).

C_1, la concentration et V le volume d'une solution de Calcium non marqué (II).

Le mélange des solutions (I) et (II) conduit à une solution dont la concentration C_2 et l'activité spécifique ρ_2 sont les suivantes :

$$C_2 = \frac{C^* V^* + C_1 V}{V^* + V}$$

$$\rho_2 = \frac{C^* \rho_1 V^*}{C^* V^* + C_1 V}$$

Enfin, l'erreur sur le taux de comptage est donnée par :

$$N \pm \sqrt{2N}$$

où N est le nombre d'impulsions par unité de temps, ce qui signifie qu'on obtient une probabilité de 0,843 pour que le résultat soit compris entre $N - \sqrt{2N}$ et $N + \sqrt{2N}$. $\sqrt{2N}$ est appelé "précision de la mesure".

4 - Le potentiel de surface (29)

- a - Les électrodes.

La méthode différentielle de mesure du potentiel de surface, dûe à un film d'étalement, utilise deux électrodes planes, parallèles à la surface de la solution et placées dans l'air à quelques millimètres au-dessus de celle-ci. Afin d'être rendues radioactives, ces électrodes sont constituées d'un dépôt de 0,7 m Ci d' Americium 241 (dont la période est de 475 ans) sur support d'argent doré ; elles ont été exécutées, sur notre demande, par "The Chemical Center", Amersham - Angleterre.

Ce dépôt d'Americium est protégé par une feuille d'or suffisamment mince pour laisser passer les particules α émises par l'Americium. Une très fine couche de paraffine est ensuite déposée afin de rendre celle-ci hydrophobe, ce qui a l'avantage d'éviter en partie, la condensation de vapeur d'eau.

Cet ensemble se trouve serti sur un disque de 15 mm de diamètre. Le disque est soudé à une tige de 15 cm de longueur, utilisé pour la connexion électrique et la fixation de l'électrode par l'intermédiaire d'un manchon isolant en "teflon". Le porte-électrode prend la forme d'un T renversé (fig. 11). Chaque électrode est fixée à

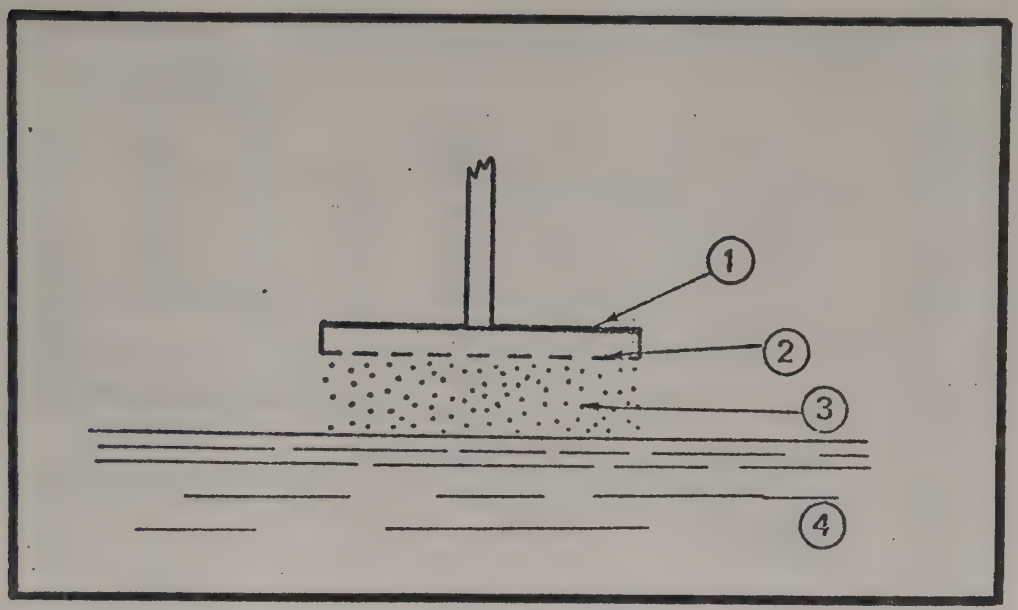


FIG. 11 - L'ELECTRODE

(1)- Support de l'Americium
(2) - Protection (feuille d'or) + Paraffine
(3) - Air ionisé par les α.
(4) - Electrolyte.

l'extrémité de la barre horizontale du T. L'ensemble,qui reste à une hauteur fixe, est mobile autour de l'axe vertical du T, de telle manière que chaque électrode puisse être placée alternativement au-dessus de chacune des demi-cellules. Celles-ci, enfin, sont placées sur un support S, mobile verticalement, permettant d'approcher la surface des solutions à deux millimètres environ du plan des électrodes. Tout cet appareillage est placé dans une cage de Faraday F, mise à la terre (fig. 12a).

.../...

- b - La cellule :

Le récipient contenant les solutions se compose de deux demi-cellules de verre "Pyrex", C_1 et C_2 , qui communiquent entre elles par l'intermédiaire d'un robinet en "teflon".

Les deux demi-cellules sont remplies par l'électrolyte support mais, tandis que l'une est maintenue "superficiellement vide", on étale sur l'autre le film à étudier, par la méthode d'étalement décrite au paragraphe - III B 2a - utilisant une microseringue.

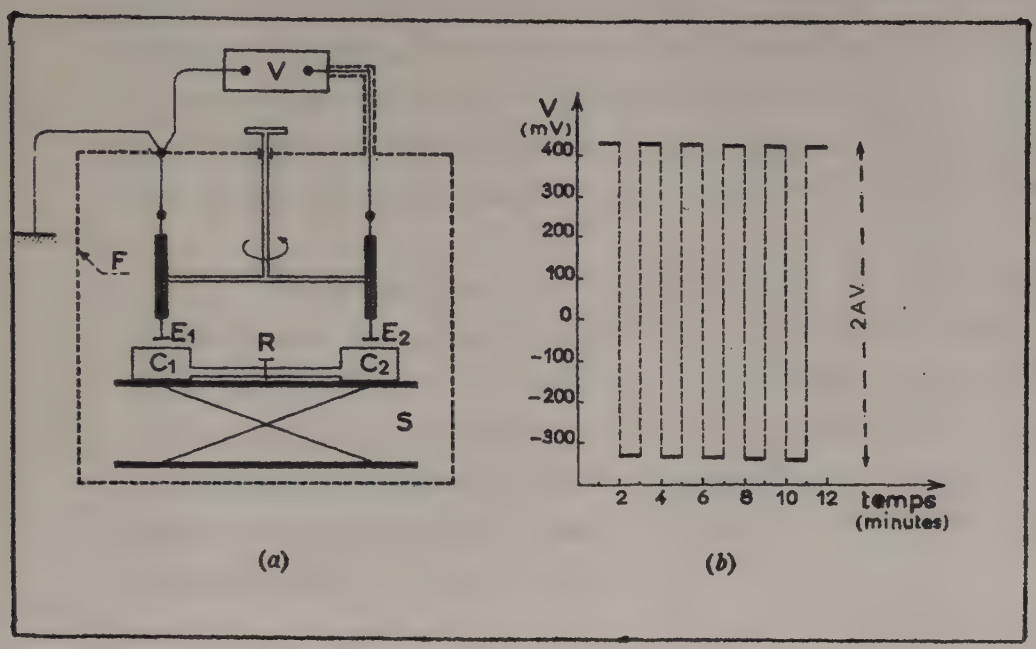


FIG 12.

(a) Schéma de l'appareil pour la mesure des potentiels de surface

(b) Exemple d'enregistrement de la différence de potentiel mesuré en fonction du temps.

- c - La mesure :

Cette technique de mesure originale due à M. Plaisance, L. Ter-Minassian (29) est une technique différentielle, elle s'inspire de celle de Gaines (30) (à la différence de celui-ci, nous supprimons l'électrode de référence que nous remplaçons par une deuxième électrode de surface; le récipient étant rempli et les électrodes placées au dessus

des surfaces, on peut mesurer directement Δ V. Toutefois, deux remarques sont à faire : les électrodes n'ont, ni le même potentiel propre, ni la même dérive. Pour éliminer ces deux inconvénients, on enregistre la différence de potentiel entre les deux électrodes en fonction du temps, et on permute les électrodes à des intervalles de temps réguliers. On obtient ainsi deux courbes parallèles qui peuvent,parfois, présenter une dérive (Figure 12b). La différence entre les valeurs obtenues dans les deux positions ne dépend pas du temps.

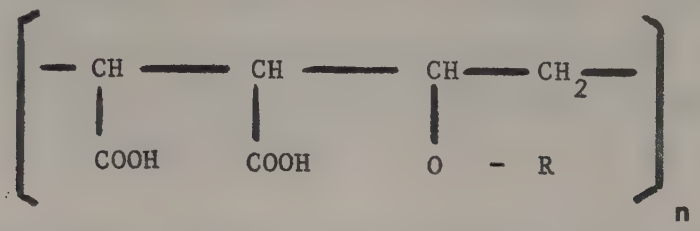
Elle est égale à 2 Δ V. Cependant, on peut observer que la différence de potentiel mesuré Δ V peut évoluer avec le temps. Cette variation est attribuée à la contamination de la surface de l'électrode par les molécules de gaz qui constituent l'atmosphère au-dessus de la solution. Le vieillessement de l'électrode de surface dans les conditions expérimentales peut améliorer le résultat sans toutefois le rendre parfait.

En conclusion, l'intérêt essentiel de notre méthode, par rapport à celle de Gaines, est d'éliminer l'erreur dûe à la dérive du potentiel propre de l'électrode de surface et de permettre les mesures de potentiel de surface des films adsorbés comme des films étalés.

V - PRODUITS - SOLUTIONS.

- Le polyélectrolyte P.S. 16 : (31)

Le polyélectrolyte hydrophobe P.S. 16 nous a été fourni par Monsieur R. Varoqui, du C.R.M. de Strasbourg. La formule du P.S. 16 est la suivante :



c'est un copolymère de l'acide maléique et de l'éther cétyl-vinylique, R étant une chaîne paraffinique en C16.

La masse moléculaire est de 384 - Les stéréomodèles révèlent, pour la projection d'un monomère sur un plan, une surface d'environ 50 A^2 .

- Tous les solvants et composés organiques, ainsi que les sels minéraux utilisés, sont des produits Merck, p.p.a.

- Le Calcium 45, sous forme de $Ca\ Cl_2$ en solution aqueuse est fourni par AMERSHAM (Angleterre). L'activité spécifique d'origine est de 100 à 200 mCi/g. L'activité spécifique, après dilution isotopique, est de l'ordre de 3 à 4 m Ci/g.

- L'eau utilisée pour la préparation des solutions est trois fois distillée. La deuxième et la troisième distillation sont effectuées en appareillage de verre. La deuxième distillation a lieu sur du $Mn\ O_4\ K$, en milieu légèrement acide, afin d'oxyder les matières grasses qui peuvent subsister.

- Les solutions des sels minéraux sont débarassées des impuretés grasses par moussage sous courant d'Azote ; toutes les solutions

.../...

de $Ca\ Cl_2$ sont préparées en tampon phosphate monosodique. La composition du tampon est représentée comme suit :

$$H_2\ Na\ PO_4\ (3{,}3\ .\ 10^{-3}\ M)\ +\ Na\ Cl\ (y)\ +\ Na\ OH\ (x)$$

La concentration du $Na\ H_2\ PO_4$ est maintenue constante dans toutes les expériences. Le pH est ajusté en faisant varier la concentration de Na O H (x). La force ionique est maintenue constante, ou est modifiée, par addition de Na Cl (y).

La concentration réelle en ions Calcium dans la solution support est inférieure à celle du Chlorure de Calcium dissous. En effet, les ions phosphates du tampon forment des complexes avec les ions Calcium et une diminution du nombre de ces ions libres a lieu (32). La concentration de ces derniers est calculée en utilisant les expressions 7 et 8 de l'Annexe I.

Les expériences sont faites à température ambiante et les faibles variations qui peuvent se produire n'affectent pas de manière sensible la quantité de Calcium lié.

VI - RESULTATS EXPERIMENTAUX.

I - LE POLYELECTROLYTE P.S. 16

- A - Solubilisation du P.S. 16.

- 1 - Choix du solvant.

Des interactions du type liaisons hydrogène, forces de Van der Waals, ainsi qu'un ensemble d'effets électrostatiques sont responsables de la structure des polyélectrolytes. La polarité des solvants détermine leur affinité, plus ou moins grande, pour certains groupements de polyélectrolytes.

A titre d'exemple, envisageons la configuration du P.S. 16, polyélectrolyte, amphipathique, dans un solvant apolaire tel que le chloroforme, $CH\,Cl_3$, et dans un solvant polaire, tel que l'eau ou l'alcool. On peut admettre que dans le Chloroforme, la molécule est pelotonnée de telle sorte que les groupes - COOH hydrophiles sont rassemblés vers l'intérieur de la molécule et, probablement, liés entre eux par des liaisons hydrogène, tandis que les chaînes en C_{16} sont orientées vers la phase Chloroforme (fig. 13a).

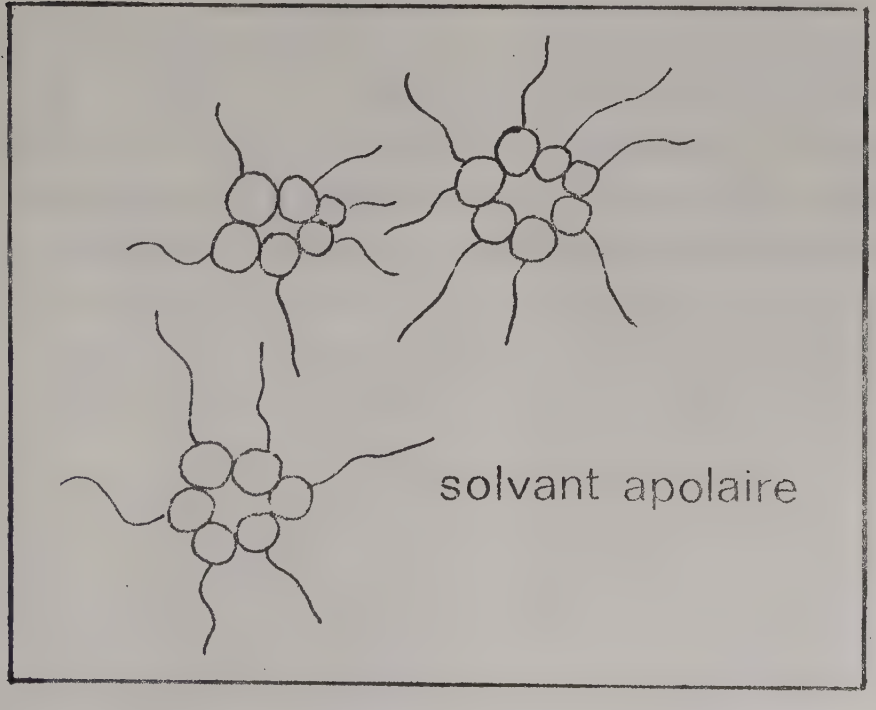


FIG 13a

Par contre dans l'eau ou dans l'alcool, les chaines en C_{16} se rassemblent vers l'intérieur de la pelote et les groupes - COOH s'orientent vers le solvant polaire (fig. 13b).

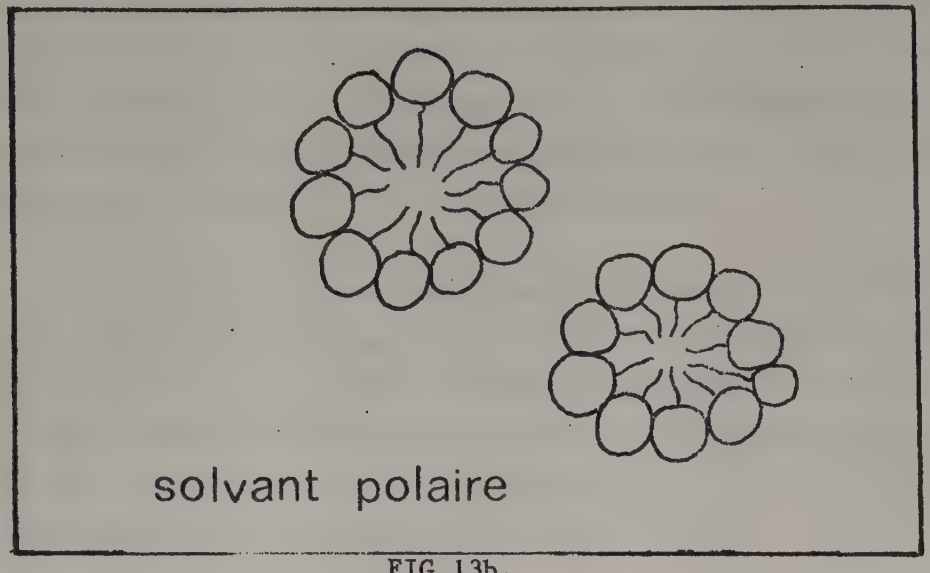
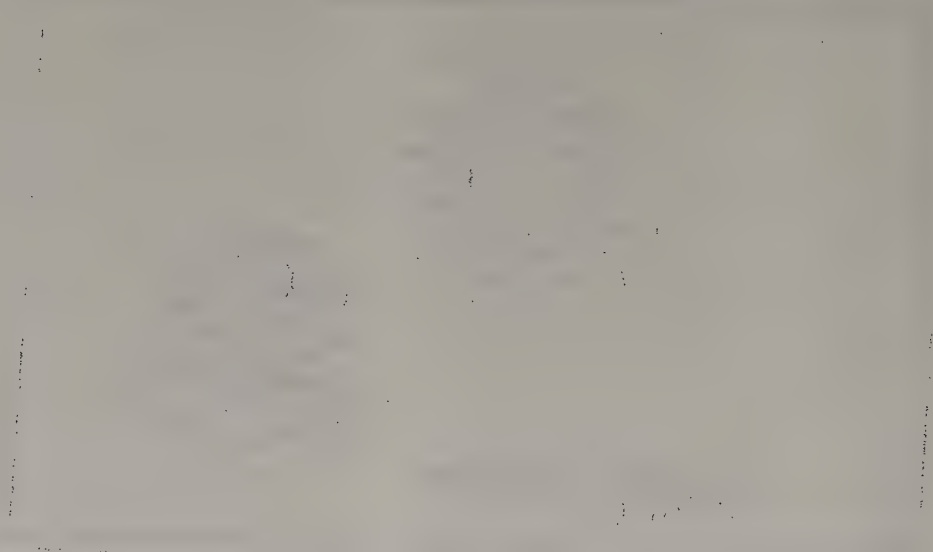


FIG 13b.

Le caractère amphipathique du P.S. 16 nécessite donc l'utilisation d'un solvant binaire, présentant des affinités maximales pour les parties polaires et apolaires de celui-ci afin de le solubiliser. Le Chloroforme favorise la solubilisation des chaines hydrocarbonnées du polyélectrolyte. On sait, par ailleurs, que l'alcool et l'acétone (entre autres) sont des agents dénaturants des protéines. Par analogie, nous pensons que ces solvants agissent de la même manière sur les polyélectrolytes ; dans ce cas, ils favoriseraient le déroulement des chaines de P.S. 16, rendant les groupes - COOH plus accessibles. Nous avons testé la capacité de solubilisation de mélanges de différents solvants, polaires, apolaires, en diverses proportions, en mesurant le taux d'adsorption des ions Calcium 45, par le P.S. 16 étalé à partir de solutions de celui-ci dans différents mélanges.

.../...



La concentration du Calcium libre en solution et la densité superficielle du P.S. 16 sont identiques pour les différents essais. Par taux de Calcium adsorbé, nous entendons le nombre d'ions Calcium fixé, sur cent monomères. Les résultats de ces expériences sont présentés dans le tableau page 39. On distinguera dans le tableau deux mélanges Chloroforme/méthanol auxquels ont été additionnés respectivement du squalène et de l'Alcool Oléique.

Ces substances organiques constituées d'une longue chaine hydrocarbonnée, contenant respectivement six double liaisons et une double liaison, pourraient favoriser l'accessibilité des groupes - COOH en déployant les chaines du P.S.16. Le déploiement des chaines du P.S.16 résulterait des interactions entre celles-ci et les chaines non saturées du squalène ou de l'Alcool Oléique.

Les résultats les plus satisfaisants ont été obtenus pour le solvant d'étalement composé comme suit : Chloroforme/Méthanol : 90/10 ($V/_V$), qui sera celui utilisé pour la préparation des solutions du P.S. 16. Notons, enfin, que la dissolution du P.S.16 est plus rapide lorsqu'on le "disperse" dans un premier temps dans l'alcool méthylique et que l'on additionne ensuite le Chloroforme. Un certain temps de "vieillessement" est nécessaire à la stabilité de ces solutions, nous pensons, à ce titre, que cet effet "temps" est en étroite relation avec un très lent changement de conformation de la molécule de P.S. 16 dans le mélange de solvants Méthanol/Chloroforme.

TABLEAU I

Adsorption des ions Calcium 45 sur un film de P.S. 16 en fonction de la composition du solvant d'étalement.

Chloroforme en volume %	2° Solvant en volume %	3° Solvant en volume %	r %
	ACETONE		
25	75	-	38
40	60	-	38
50	50	-	32
60	40	-	50 ± 4
	ALCOOL AMYLIQUE		
95	5	-	40 ± 4
90	10	-	48 ± 10
80	20	-	46 ± 12
	ALCOOL ETHYLIQUE		
90	10	-	63 ± 10
80	20	-	55 ± 8
50	50	-	28,8
	ALCOOL METHYLIQUE		
90	10	-	71 ± 10
70	30	-	62 ± 2
50	50	-	60 ± 5
	ALCOOL METHYLIQUE	SQUALENE	
86	10	4	40 ± 8
		ALCOOL OLEIQUE	
86	10	4	68 ± 2

- Les quantités de solvant dans le mélange sont exprimées en volume pour cent.
- Le Calcium est en solution tampon phosphate, pH 8 , force ionique 10^{-2}.
- La concentration de la solution en $Ca\ Cl_2$ (Calcium libre) = $8,15 \cdot 10^{-5}$
- L'activité spécifique du Calcium : 3,6 m C/g.
- La densité superficielle du P.S. 16 = $9,25 \cdot 10^{14}$ résidus/cm^2
- Le taux de Calcium par monomère , r, est exprimé en pour cent.

- 2 - Composition du support.

L'adsorption du Calcium par les groupes - COOH du P.S. 16 dépend fortement de la configuration de la molécule, elle-même fonction du solvant utilisé [Tableau page 37.]

Certains auteurs (38) ont trouvé que l'addition d'un alcool tel que le propane-diol ou le Glycérol au support aqueux, sur lequel des films de polymère sont étalés, favorise le deploiement de ceux-ci. Le propane-diol et le glycérol diminuent la polarité du milieu aqueux et augmentent ainsi l'affinité entre le support et les chaines hydrocarbonnées du corps étalé. Afin de vérifier si ce phénomène était valable dans le cas du P.S. 16, nous avons additionné, respectivement, du propane-diol et du Glycérol à la solution aqueuse de $Ca\ Cl_2$ et nous avons mesuré le taux d'adsorption du calcium, r , à partir de ces solutions par le P.S. 16 étalé. La concentration de la solution de $Ca\ Cl_2$, l'activité spécifique du Calcium, le pH et la force ionique de la solution, ainsi que la densité superficielle du P.S. 16 , sont ceux mentionnés dans la légende du Tableau I. Le solvant d'étalement : Chloroforme/ Méthanol : 90/10 (V/v). Les résultats obtenus sont les suivants :

1°) Solution aqueuse de $Ca\ Cl_2$ + propane-diol : 50/50 en volume

$$r = 29 \pm 2\ \%$$

2°) Solution aqueuse de $Ca\ Cl_2$ + Glycérol : 50/50 en volume.

$$r = 28 \pm 2\ \%$$

Le taux d'adsorption est relativement faible dans les deux cas. Si l'abaissement de la constante diélectrique du support doit augmenter, l'affinité entre le support et les chaines hydrocarbonnées du P.S. 16, il doit, par contre, diminuer considérablement la dissociation des groupes carboxyliques.

.../...

- B - Etat du film en fonction de sa densité superficielle.

Etant donné que le P.S. 16 est constitué de macromolécules, nous nous sommes assurés de l'état des films de P.S. 16, à savoir de la répartition du P.S. 16 en surface, compte tenu des quantités de P.S. 16 étalées. A cette fin, nous avons monté un dispositif expérimental qui permet de mesurer le potentiel de surface, Δ V, d'un film de P.S. 16, étalé sur un substrat contenu dans une cuve parallélépipédique, de manière continue, sur toute la longueur de la surface d'étalement.
Nous avons procédé comme suit :

A la surface du substrat, nous déposons un cadre de "teflon", découpé de telle sorte qu'il compartimente la surface du support aqueux en trois parties : a, b et c (fig. 14)

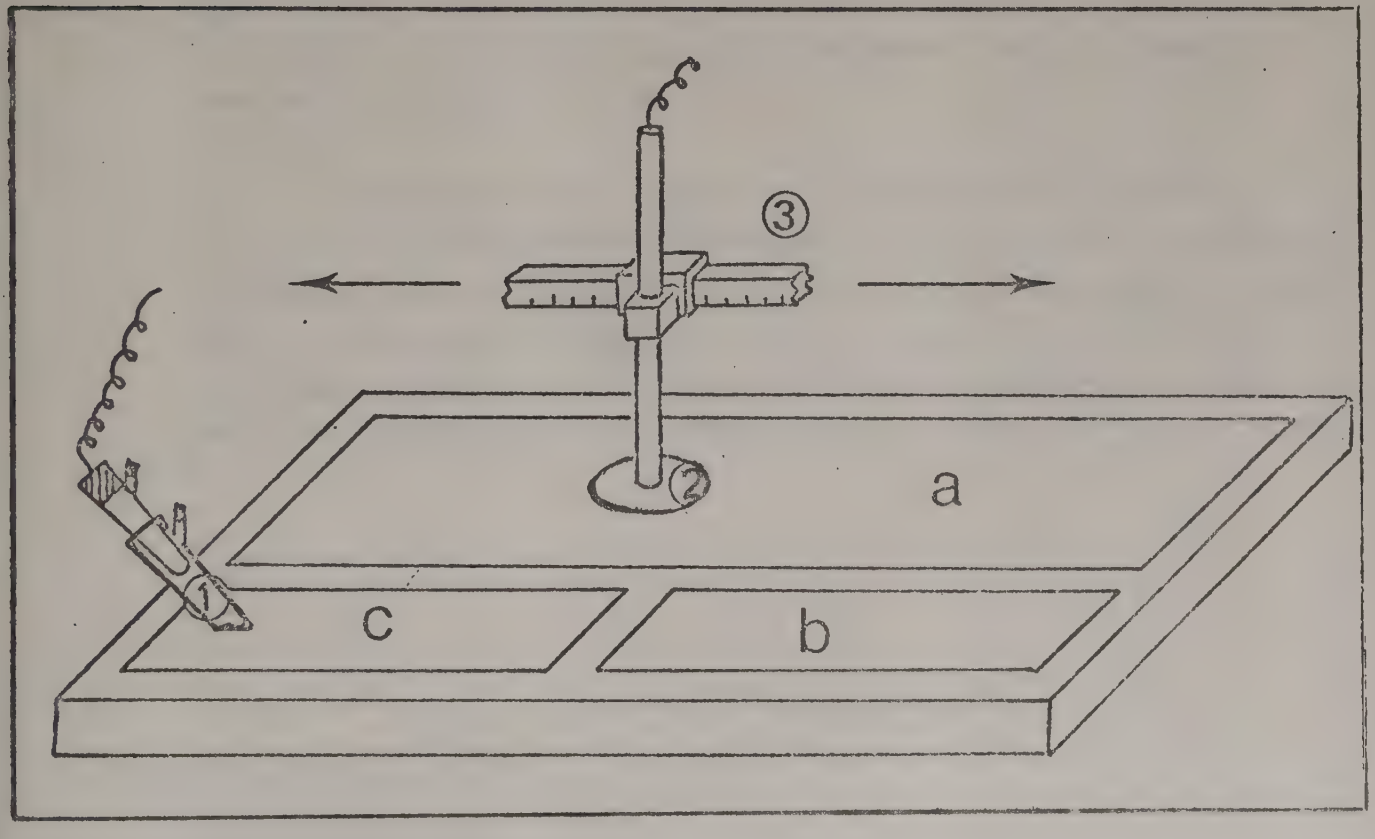
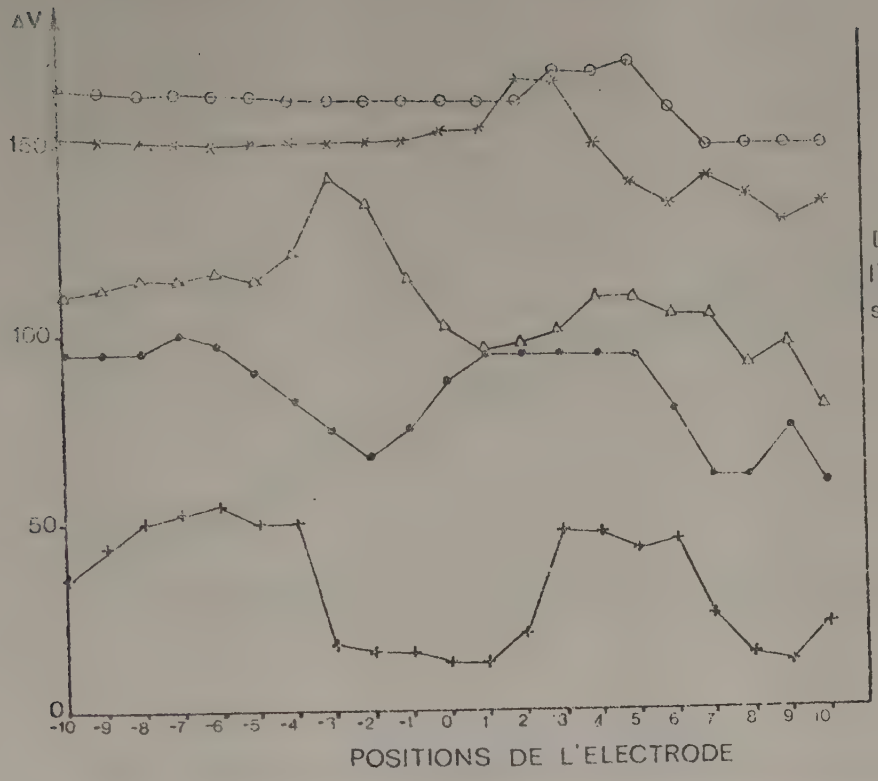


FIG 14.

Le potentiel de surface du P.S. 16 étalé en (a) est mesuré par rapport à la surface de référence du substrat libre en (b). Le potentiel est mesuré au moyen d'une électrode de mesure, du type décrit en III B 4 C et d'une électrode de référence (Electrode au Calomel), plongée en (c). L'électrode de mesure est montée sur un rail permettant un balayage de toute la surface d'étalement, soit la mesure du potentiel en chaque point. La cuve est graduée sur toute sa longueur, de part et d'autre d'un point central (O) en 10 points équidistants. Le potentiel de surface a été mesuré en fonction de l'emplacement de l'électrode de mesure, pour différentes quantités de P.S.16 étalé en (a). Le P.S. 16 est déposé,soit au centre, soit à l'extrémité de la surface d'étalement. Les courbes de la figure 15 et de la figure 15′ rendent compte de ces mesures.

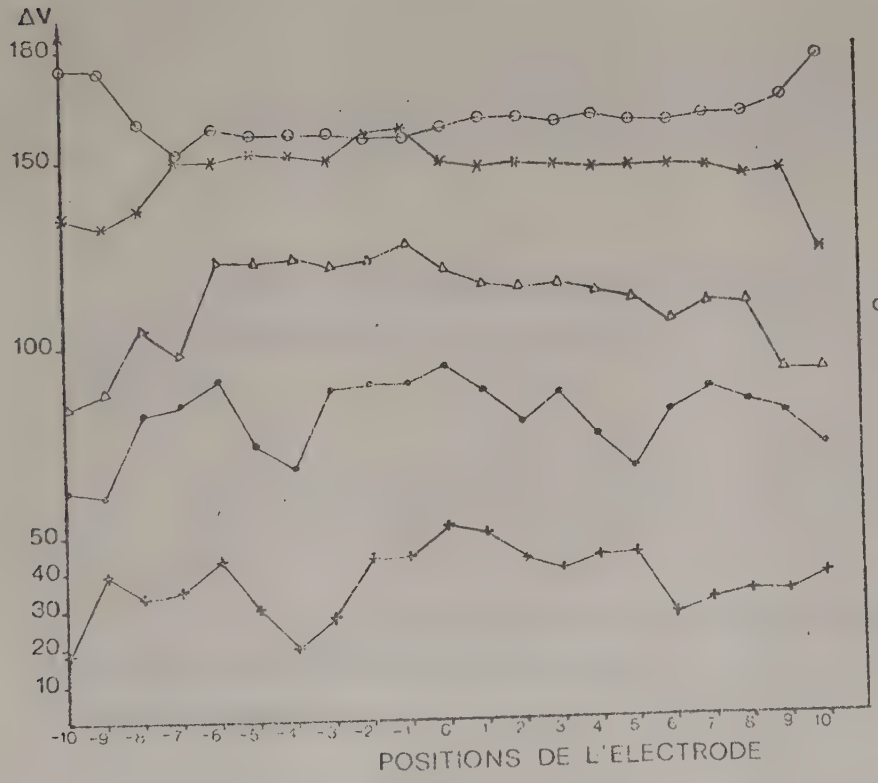
On constate à partir des courbes des Figures 15 et 15′ que les fluctuations importantes du potentiel de surface, Δ V, en fonction de la position de l'électrode de mesure s'atténuent lorsque la densité superficielle du P.S. 16 croît.

Ces fluctuations révèlent une répartition non uniforme du P.S. 16 à la surface, soit une hétérogénéité des films due à la présence d'agrégats. Lorsqu'on porte la moyenne du potentiel de surface, établie à partir des valeurs obtenues sur toute la longueur de la surface, pour chaque densité superficielle, en fonction de celle-ci, on obtient une courbe représentée dans la figure 16.



Dépot de PS 16 à l'extrémité de la surface d'étalement

15



Dépot de PS 16 au centre de la surface d'étalement

15'

Légende commune fig. 15 et 15'

+ 0,32. 10^{14} monomères . cm^{-2}
. 0,46. 10^{14} monomères . cm^{-2}
Δ 1,66. 10^{14} monomères . cm^{-2}
x 2,22. 10^{14} monomères . cm^{-2}
o 3,88. 10^{14} monomères . cm^{-2}

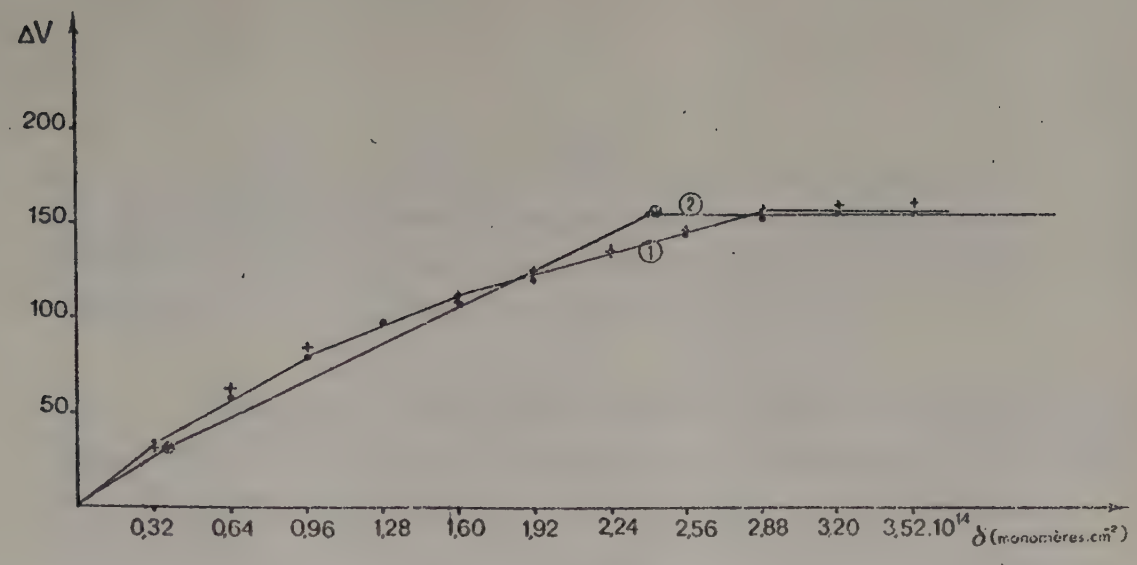


Fig.16

Fig 16 : (1) Courbe résultant des moyennes des valeurs de Δ V

(2) Potentiel de surface Δ V en fonction de δ (monomère x cm^{-2}) à pH constant et C_{Na^+} dans la solution : $6,6.10^{-3}$ M en absence d'ions Calcium.

Nous avons porté sur cette même figure la courbe, pour un substrat identique, établie par Madame C. Thomas selon la méthode décrite en B 4.

On constate que les valeurs de Δ V sont identiques, à partir d'une valeur de δ d'environ $2,40.\ 10^{14}$ monomères . cm^{-2}.

La quasi-totalité des expériences d'adsorption et de potentiel de surface ont été effectuées au delà de cette valeur, qui est la densité superficielle à partir de laquelle les molécules de P.S. 16 ne sont plus indépendantes les unes des autres. (Nous avions appelé cette aire "aire critique") - comme le montrent les courbes expérimentales décrites plus loin.

.../...

En effet, lorsque l'on opère selon la méthode décrite en B_4, les électrodes de mesure ont des dimensions comparables aux surfaces d'étalement, de sorte que la valeur du potentiel mesuré résulte d'une intégration de la répartition moyenne des agrégats.

Concernant les pressions superficielles, la présence d'agrégats, même à faible pression, n'invalide en aucune manière les résultats, la pression exercée par le film de P.S. 16, à l'équilibre, étant identique en tout point de cette surface.

- C -Quantité de Calcium adsorbé en fonction de la densité superficielle du P.S. 16.

Nous avons vérifié que la variation de l'adsorption des ions Calcium marqués était proportionnelle à la densité superficielle du P.S. 16 étalé (fig. 17).

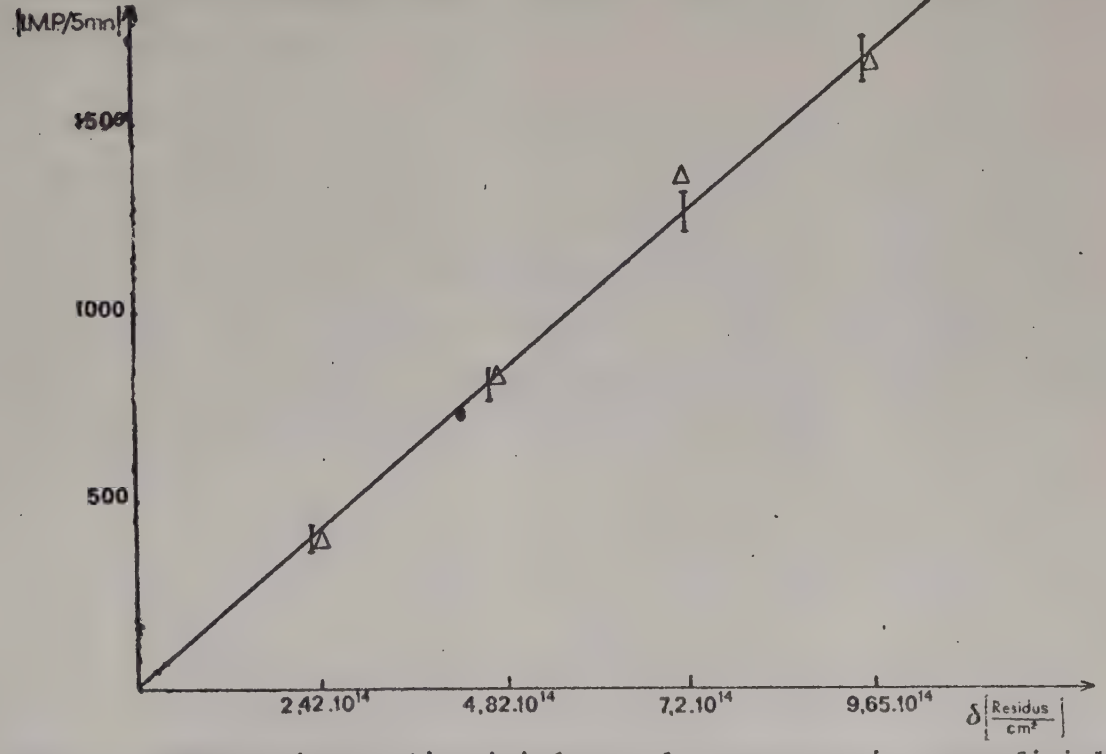


Fig 17 : augmentation de l'activité avec la concentration superficielle de P.S. 16. Tampon phosphate. Concentration de la solution de P.S. 16 étale : 0,5 mg/ml. δ : densité du P.S. 16; C : comptage I : barre d'erreur. Activité spécifique du $^{45}Ca^{++}$: 3,9 mCi/g r = 50 %.

Différents volumes d'une solution de P.S. 16 ont été déposés sur différents supports aqueux contenant du $Ca\ Cl_2$ (Tampon phosphate pH = 7,5 et concentration en $Ca\ Cl_2$: $2.\ 10^{-5}$).

Pour des films très denses, bien au delà de la pression d'affaissement, l'activité mesurée ne varie plus linéairement en fonction de la densité superficielle du P.S. 16. Dans ce domaine, le P.S. 16 est sous une forme tri-dimensionnelle et nous pensons que certains groupes - COOH situés dans la masse et à l'interface air-eau ne sont plus accessibles aux ions Calcium. Dans nos expériences, nous n'avons pas dépassé la valeur de $1,85.\ 10^{15}$ groupes COOH . cm^{-2} ou $9,25.\ 10^{14}$ monomères . cm^{-2}.

2 - LES PRESSIONS SUPERFICIELLES

Les mesures ont été effectuées selon les deux techniques décrites dans la partie III - B - 2.

Nous avons étudié les effets du pH du support et du Calcium adsorbé par les films du P.S. 16, sur la pression superficielle de ceux-ci [Fig. 18-19-20-21] . Les figures 18-19-20représentent les courbes isothermes de compression, (Technique I), obtenues pour différentes conditions expérimentales. La figure 18 rend compte d'une courbe commune à trois séries de mesures effectuées aux pH 3,8;6 et 8 pour une concentration de Calcium en solution nulle.

.../...

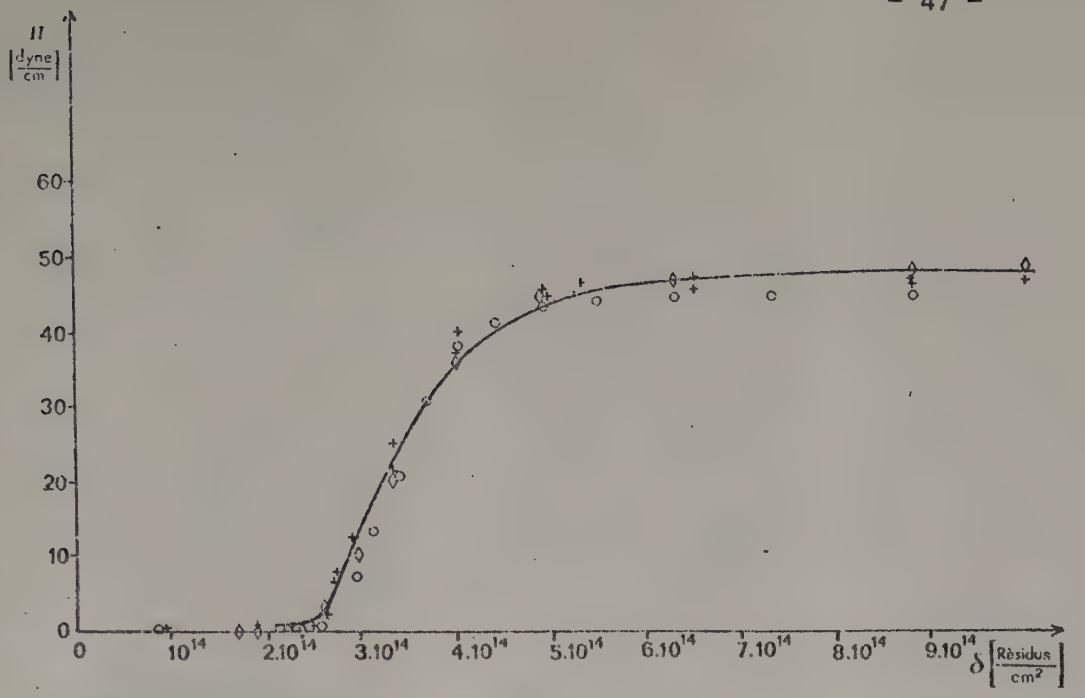


Fig. 18 : Pression de surface des films de P.S. 16 étalés à différentes valeurs de pH du substrat en l'absence de Ca^{++} pH : 3,8 (◊) ; pH 6 (+); pH 8 (o); π : pression de surface ; δ : densité du P.S. 16 en surface.

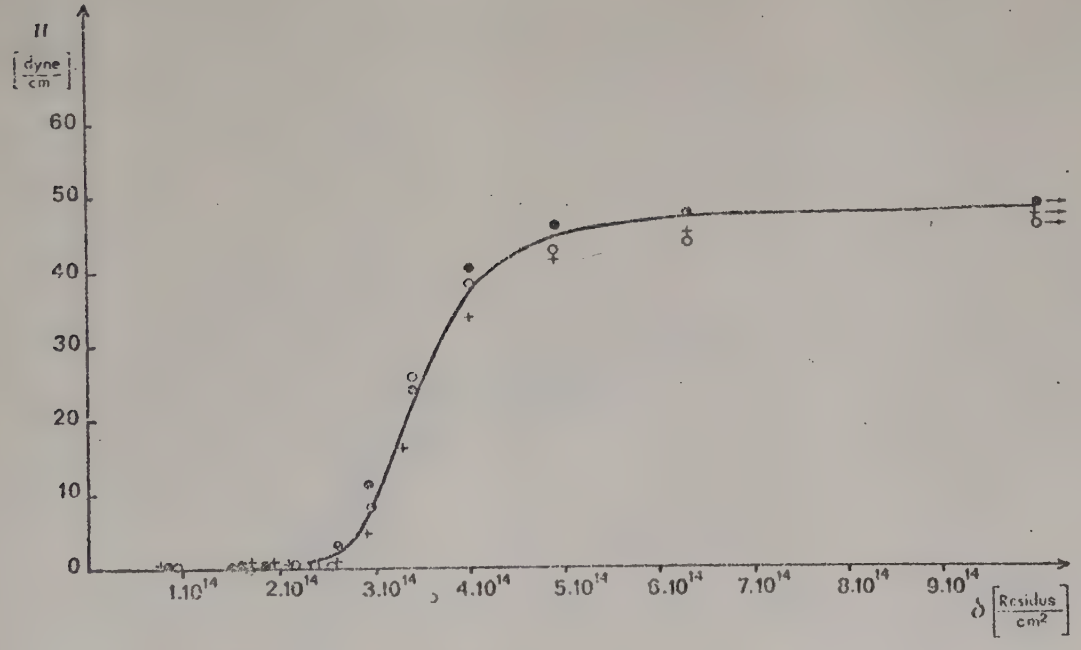


FIG 19.

Fig 19 : Pression de surface des films étalés de P.S. 16 en présence d'ions Calcium, à différents pH et pour différentes quantités d'ions Calcium liés. π : pression de surface ; δ : densité de P.S. 16 en surface. Concentration de $Ca\,Cl_2$ dans le substrat : 10^{-5}M.

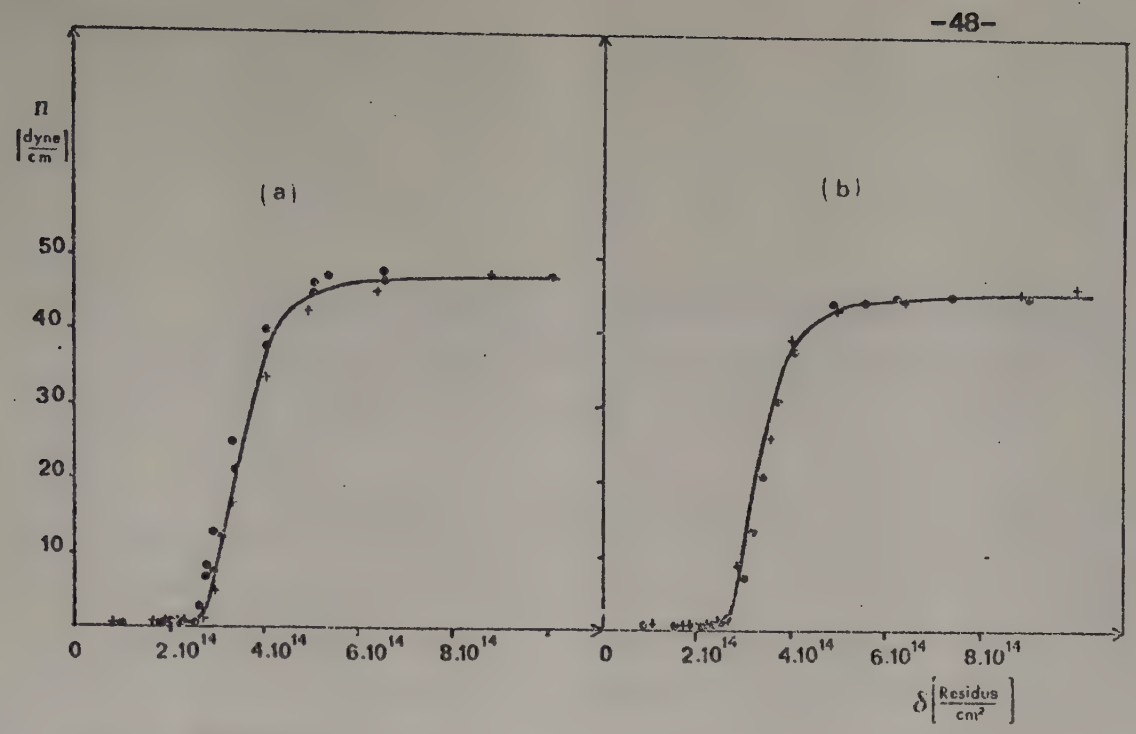


Fig 20: Effet des ions Calcium sur la pression de surface des films de P.S. 16 étalés.
a) pH 6 ; b) pH 8 ; pour π, r et δ voir figures 18 et 19
Concentration de Ca Cl_2 dans le substrat : zéro (o) ; 10^{-5}M (+)

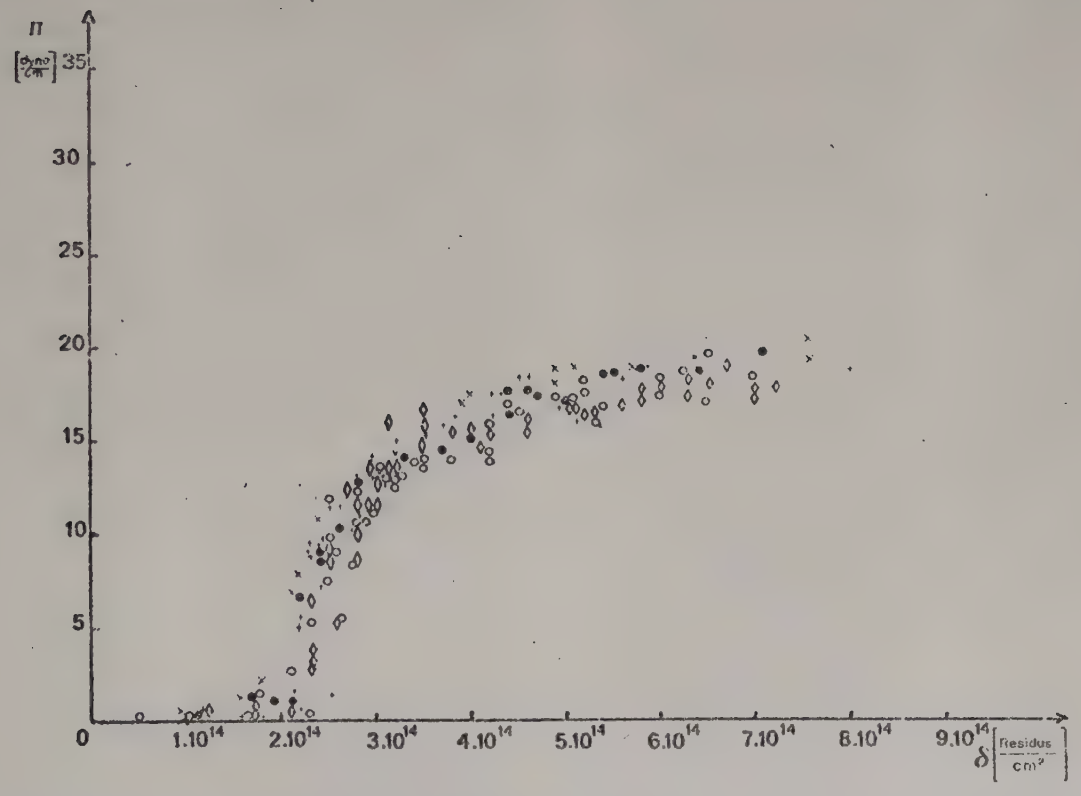


Fig : 21 : Pression de surface des films de P.S. 16 étalés sur une surface de 73 cm^2 ; pH 8 ; concentration en Ca Cl_2 dans le substrat : zéro (◊) ; 1,95 10^{-5} M (o) ; 5,2 10^{-5} M (+) ; 7,32 10^{-5} M (•) ; 1,5 10^{-4} M (X). Pour π et δ, voir les figures 18 et 19

De même la figure 19 rend compte d'une courbe commune à trois séries de mesures effectuées aux pH 3,8;6 et 8 pour une concentration de Calcium en solution de 10^{-5} M.

Sur la figure 20 sont reproduits les résultats correspondant à divers pH et diverses teneurs en Calcium du substrat. Les résultats obtenus en opérant selon la Technique II sont portés dans la figure 21. Seules les valeurs à pH = 8, pour des concentrations variables de Calcium dans le support ont été reproduites ; les valeurs à pH = 6 sont similaires.

Afin de comparer les isothermes obtenues selon les deux techniques, deux d'entre elles, valables pour une composition du support identique, pH = 8, concentration du Calcium en solution nulle, sont portées dans la figure 22.

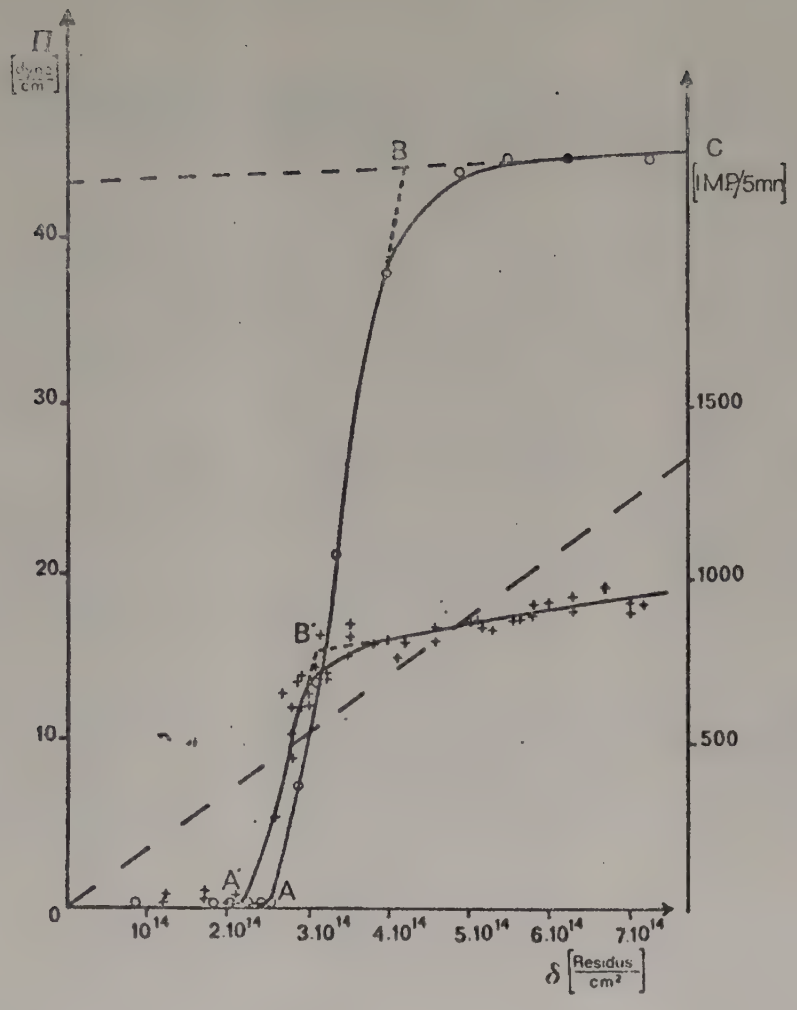


FIG. 22

Fig. 22 : Comparaison des mesures de pression de surface de films étalés par les deux techniques et en l'absence de Calcium à pH 8 . en étalement (+). En étalement puis en compression (o) Le comptage est noté seulement pour les films étalés (------); pour π et δ voir figures 18 et 19.

3 - ADSORPTION DU CALCIUM SUR LES FILMS DE P.S. 16

Nous avons étudié les effets du pH, de la concentration en ions Calcium et de la force ionique du support sur l'adsorption des ions Calcium par le P.S. 16 étalé à sa surface.

Les figures 23, 24 et 25 rendent compte des variations du taux d'adsorption des ions Calcium, "r", en fonction de la densité superficielle du P.S. 16 exprimée en monomères . cm^{-2}, et des différentes conditions expérimentales.

Les mesures d'adsorption des ions Calcium à partir de substrat dont le pH était supérieur à 7,5 ont été effectuées en atmosphère d'Azote, afin d'éviter l'effet du CO_2 de l'air sur les pH basiques (dont le pouvoir tampon était assez faible).

Pour étudier le déplacement des ions Calcium fixés sur le P.S. 16, en fonction de la concentration des ions Sodium présents dans le substrat, nous avons opéré à concentration en ions Calcium et densité superficielle du P.S. 16 constants. Les résultats obtenus sont portés sur la figure 26.

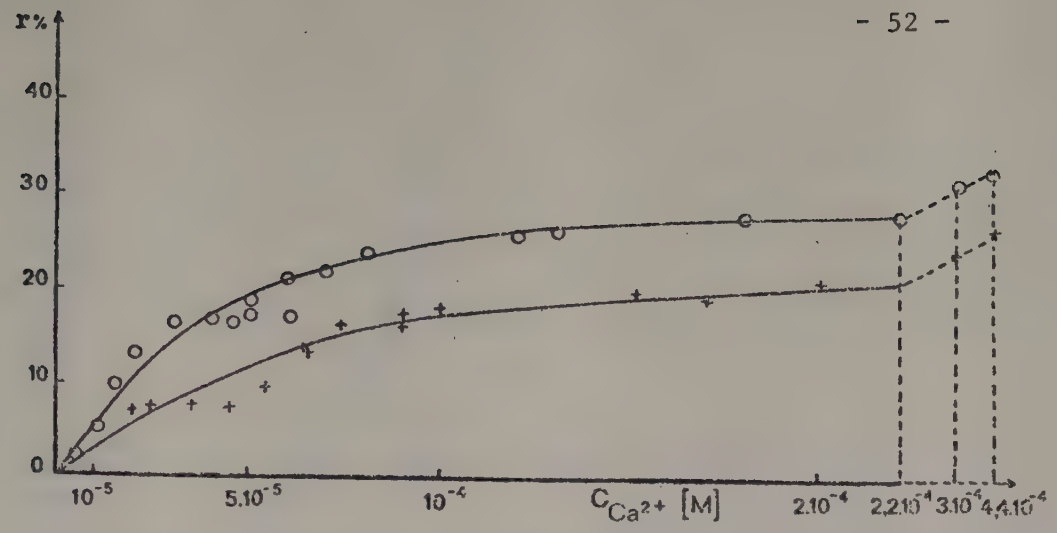


Fig 23 : Variation des ions Calcium liés, avec leur concentration dans le substrat. r = pourcentage d'ions Calcium par monomère ; densité superficielle des groupes carboxyliques $1,85\ 10^{15}$ groupes/cm^2. C_{Ca} = concentration de Calcium libre dans le substrat. pH 6 ; Concentration en Na^+ = $6,6\ 10^{-3}$ N (o) et $3,43\ 10^{-2}$ N (+)

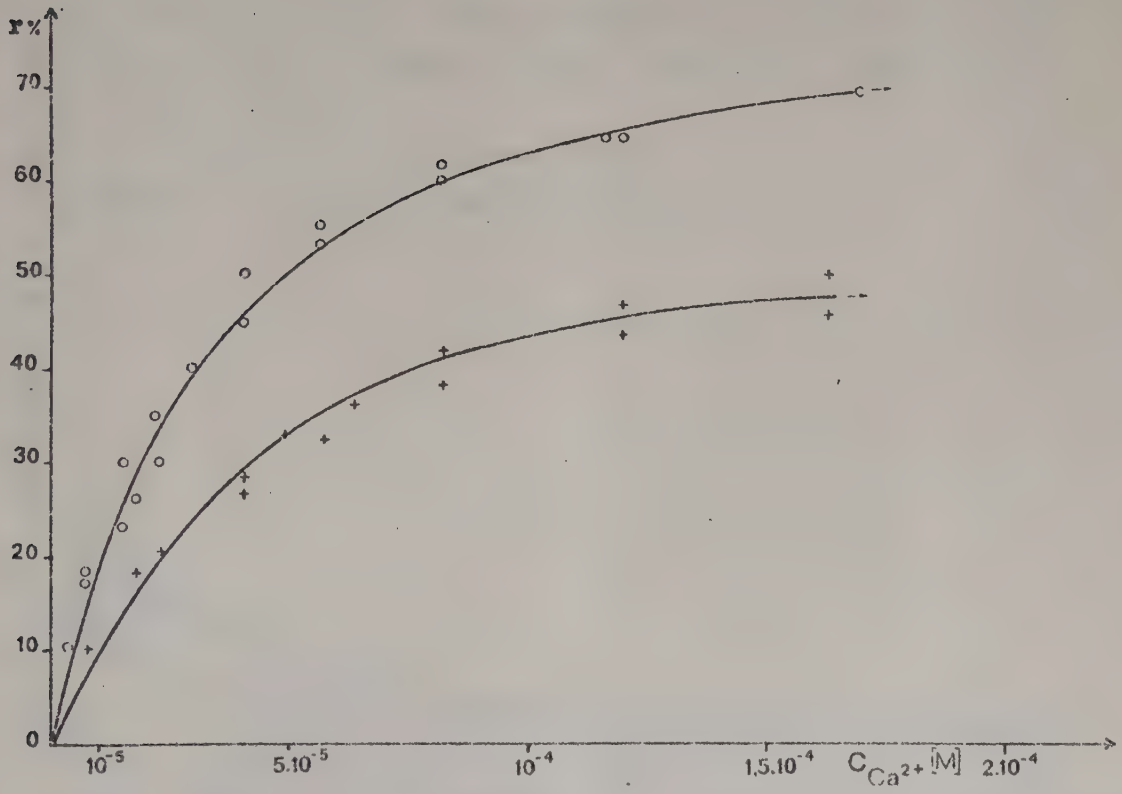


Fig 24 : Effet des ions Calcium dans le substrat, sur leur fixation sur les films de P.S. 16 ; pH 7,5 ; $C_{Ca^{++}}$, r , densité de surface du monomère et C_{Na^+} identique à fig. 23

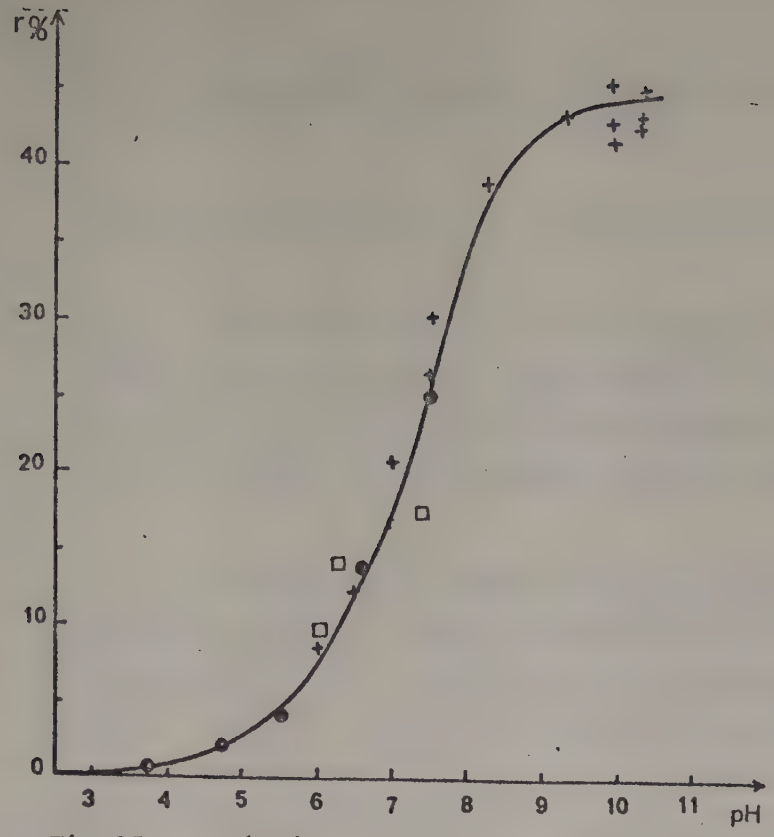


Fig 25 : Variation de la fixation des ions Calcium sur les films de P.S. 16 avec le pH du substrat. La concentration de $Ca\ Cl_2$ dans le substrat est constante et égale à 2.10^{-5}M ; δ : $9,65\ .10^{14}$ monomères par cm^2 ; r : % d'ions Calcium/monomère. Les compositions des tampons sont comme suit : pH 3,8 (acide formique et Na Cl) ; pH 6 à pH 8 (phosphate) ; pH 9 ($CO_3HNa + CO_3Na_2$) ; pH 10 à 11 (NaOH + Na Cl) ; C_{Na} + total : $6,6\ 10^{-3}$.
(•) résultats obtenus en présence d'air.
(+) résultats obtenus en atmosphère d'Azote.

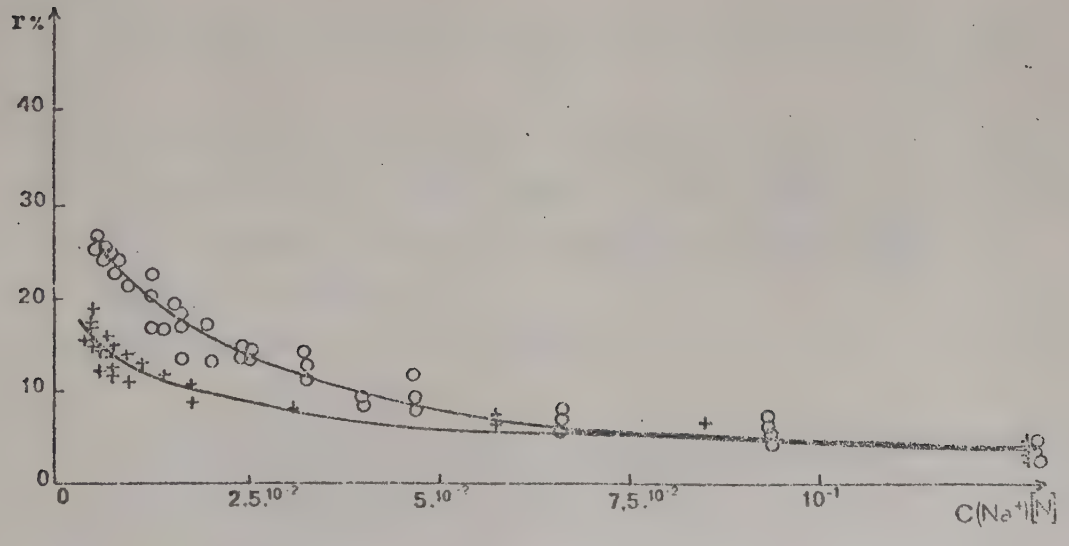


Fig. 26 : Déplacement des ions Calcium (fixés à un film de P.S. 16) par des ions Sodium. r : pourcentage d'ions Calcium par monomère ; C_{Na^+} : concentration en ions Na^+ dans le substrat. Densité superficielle des groupes COOH ; $1,85\ 10^{15}$ groupes/cm^2 ; $C_{Ca\ Cl_2}$: $2\ 10^{-5}$ M, pH 7,5 (o), pH 6 (+).

4 - LES POTENTIELS DE SURFACE (Résultats de l'étude de C.THOMAS).

- a - Le film de P.S. 16 et son potentiel de surface (Annexe II).

En accord avec les travaux récents de différents auteurs (Haydon (33), Strauss (34), Katchalsky (35)) Madame C. Thomas montre que, dans le cas d'un film de polyélectrolyte, la pénétration des contre ions dans la région occupée par les charges est probable.

La figure 27 montre les quatre types de résidus a, b, c, d, possibles, pour un film de polyacide tel que le P.S. 16 parmi les résidus ionisés a, b, c, seuls a et b sont neutralisés par les contre ions M^{z1+} et M^{z2+} , c est neutralisé par les contre ions de la couche diffuse . Les tailles finies des sites négatifs et des contre ions gênent la pénétration complète de ces derniers dans le plan des premiers ; cette pénétration diminue la densité nette de charge au plan x = d neutralisé par la couche diffuse de la région x > d ; pour x < d, il se formerait des paires d'ions entre les sites négatifs et les contre ions partiellement déshydratés, paires d'ions se comportant comme des "dipôles discrets" (37) et contribuant au potentiel η produit par le film et les molécules d'eau. Dans ces conditions, le potentiel de surface, ΔV, peut se mettre sous la forme : (voir Annexe II)

[19] $\Delta V = \text{Constante} + \phi_o$

avec

[20] $\phi_o = 4\pi\delta(1-\alpha)\overline{P}_{OH} + 4\pi\delta_1\overline{P}_1 + 4\pi\delta_2\overline{P}_2 + \phi_d$

où $\overline{P}_{OH}$ est le moment dipolaire effectif d'un groupe OH; δ_1 et δ_2 : les nombres de paires d'ions formés par deux contre ions monovalents.
$\overline{P}_1$ et $\overline{P}_2$: moments dipolaires effectifs des contre ions.
α : degré de dissociation
ϕ_d : potentiel de la couche diffuse.

- b - Détermination de α, degré de dissociation du polyélectrolyte, dans la phase superficielle, à densité superficielle δ constante.

En présence des seuls contre ions Na^+, les courbes de potentiel de surface en fonction du pH ont l'allure de courbes de titrage potentiométriques (fig. 28).

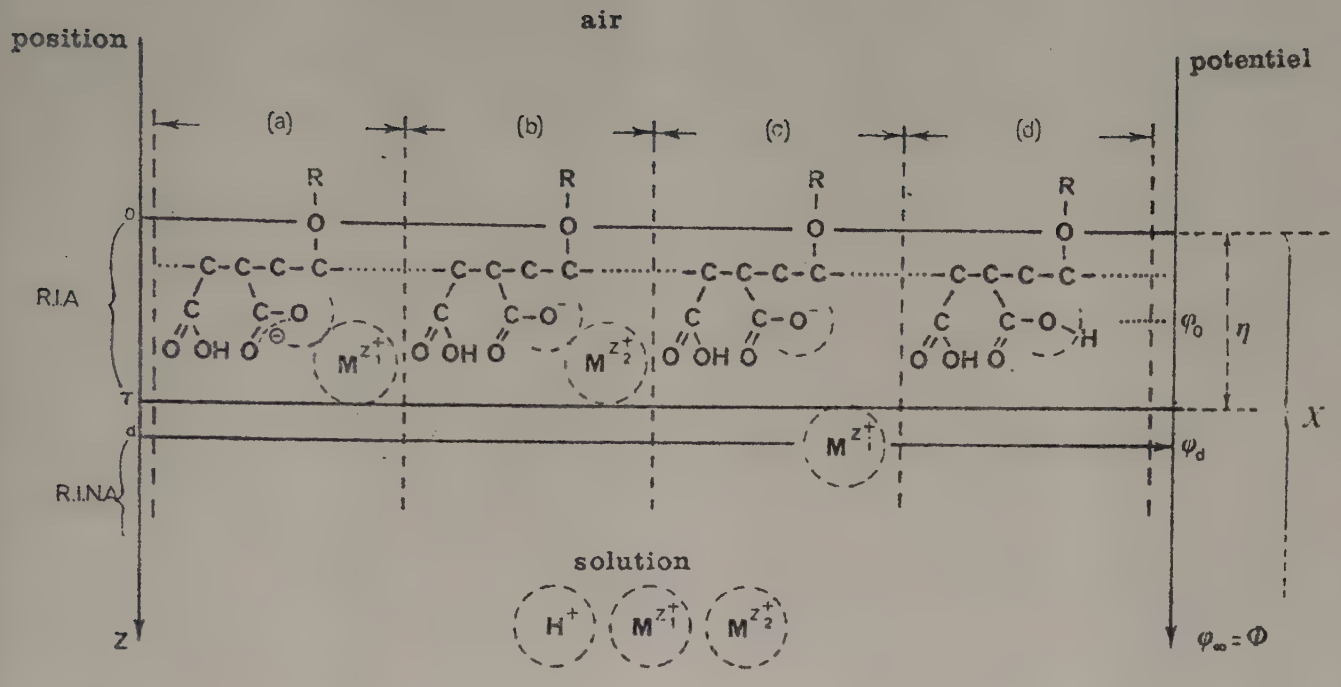


Fig 27 : Modèle représentant une couche monomoléculaire à un pH et une composition ionique du substrat donnés. Les résidus (a), (b) et (c) sont ionisés, (d) est sous sa forme acide. Dans (a) et (b) les ions M^{z1+} et (ou) M^{Z2+} forment des paires d'ions avec les carboxylates se trouvant au niveau $x = \tau$; (c) est neutralisé par des contre ions de la couche diffuse à $x = d$. Le plan se trouvant à $x = d$ sépare la Région des Ions Appariés (R.I.A.) de la Région des Ions Non Appariés (R.I.N.A.). Pour la définition des ϕ_o, ϕ_d et χ voir le texte.

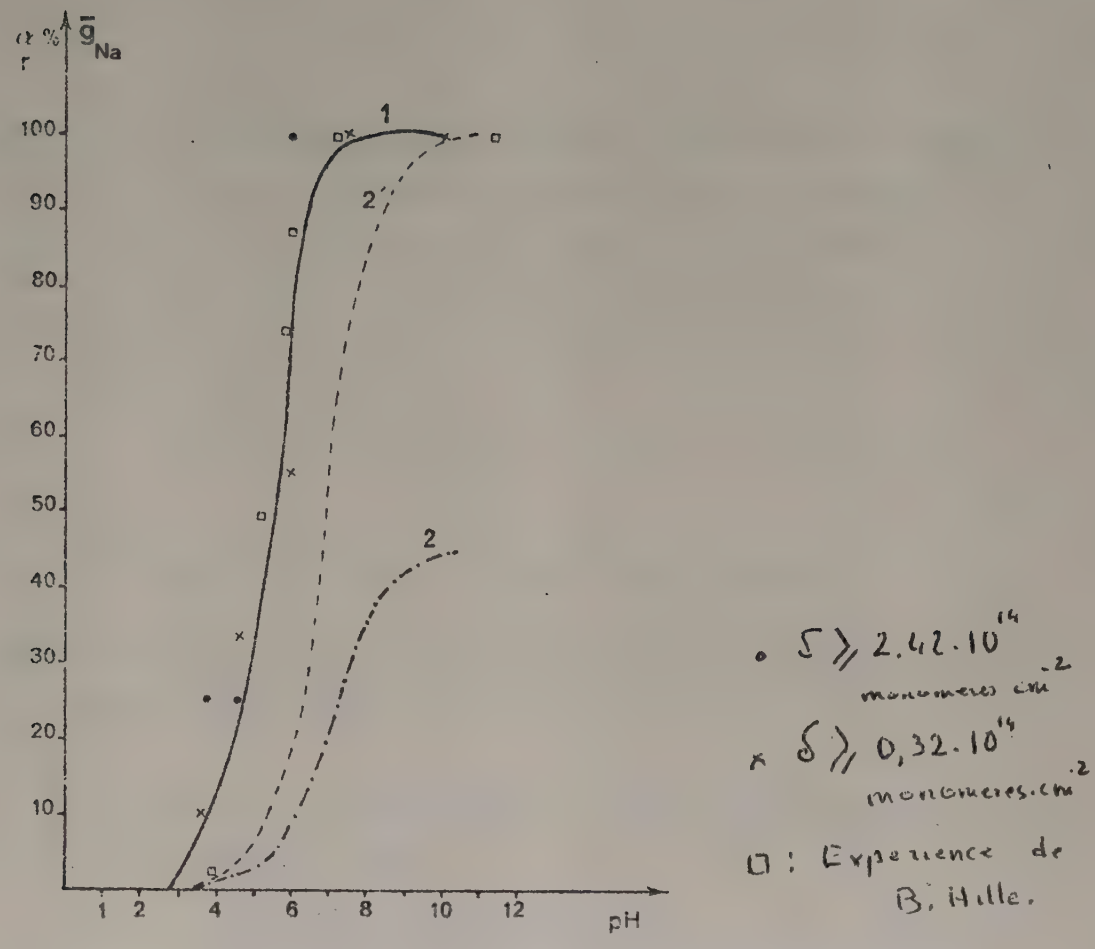


Fig. 28 : Courbe (1) = α : taux de dissociation de COOH par monomère en fonction du pH ; α est calculé à partir de la relation [2]

Courbe (2) : r : nombre d'ions Calcium liés/nombre de monomères x 100, en fonction du pH (fig. **25**).

Ca^{2+} dans la solution : 2.10^{-5} M

Na^{+} dans la solution : $6{,}6.10^{-3}$ M

□ : augmentation relative de la conductance maximale de $\bar{g}_{Na}$ la membrane avec le pH, tiré des expériences de B. Hille (15)

Courbe (2') : courbe 2 dans l'échelle 100 %.

Par ailleurs, à pH constant, la force ionique n'ayant pas sensiblement d'effet sur le potentiel de surface, le terme ϕ_d peut être négligé dans l'expression Δ V. On montre alors (Annexe IV) qu'il existe une relation linéaire entre Δ V et le degré de dissociation α qui ne peut dépasser 1, même à pH > 10 : (voir Annexe) :

$$[21] \qquad \alpha = \frac{\Delta V - \Delta V_{\alpha=o}}{\Delta V_{\alpha=1} - \Delta V_{\alpha=o}}$$

relation valable quelle que soit la densité superficielle δ.

- c - Relation entre la constante apparente de dissociation du film et le potentiel de surface (voir Annexe IV).

L'équilibre de dissociation des groupes carboxyliques du P.S. 16 peut être représenté par :

$$- \overline{COOH} \rightleftharpoons \overline{COO^-} + H^+$$

où les espèces surlignées sont dans la phase superficielle ,la constante intrinsèque de dissociation de cet équilibre étant égale à :

$$K_o = \frac{a_{\overline{COO^-}} \cdot a_{H^+}}{a_{\overline{COOH}}} = \frac{\alpha}{1-\alpha} \cdot \frac{f_{\overline{COO^-}}}{f_{\overline{COOH}}} \cdot a_{H^+}$$

Si l'on peut écrire avec Guntelberg que :

$$k\ T\ \mathrm{Log}\ f_{\overline{COO^-}} = -e\ \phi_o$$

on en déduit facilement :

$$[22] \qquad pK_{app.} = pH + \log \frac{1-\alpha}{\alpha} = pKo - \frac{e}{2{,}3\ kT} (\Delta V - C^{te})$$

.../...

C'est ce qui explique la variation linéaire de pK app. en fonction de Δ V, avec une pente négative de valeur $\frac{e}{2,3\ kT}$ = 17,8 volts^{-1}.

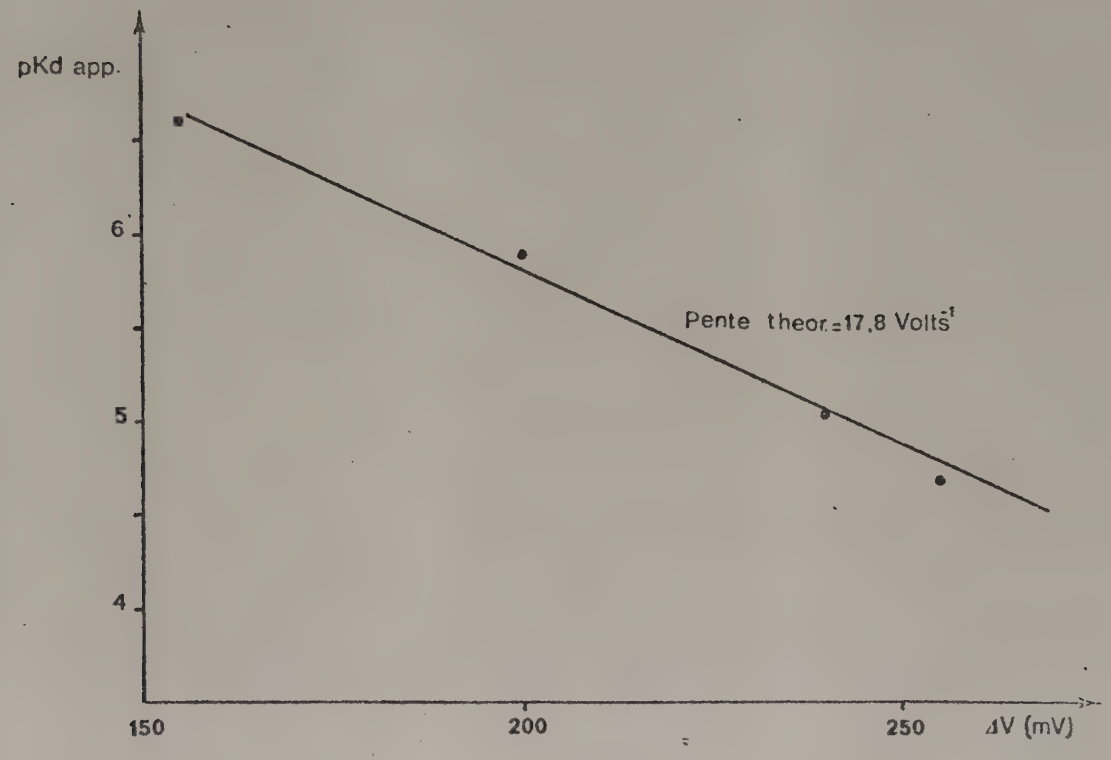


FIG. 29

Fig. 29 : pK $_{app.}$ de dissociation des films superficiels de P.S. 16 en fonction de Δ V. La droite a une pente théorique de 17,6 volt^{-1} en accord avec la relation 22 page 59.

- d - Variation du potentiel de surface avec le rapport $\frac{[Ca^{++}]}{[Na^{+}]}$ ou le pH du substrat.

Le potentiel de surface des films étalés à densité superficielle δ , en monomères, constante, augmente avec la concentration en ions Calcium dans le substrat, ou bien lorsque la force ionique diminue ou encore lorsque le pH diminue (Annexe III).

VII - INTERPRETATION des RESULTATS et DISCUSSION.

- ETAT SUPERFICIEL DES FILMS DE P.S. 16, IONISATION

Il ressort de l'étude des pressions superficielles que les films étalés et comprimés sur des substrats différents sont condensés et solides (fig. 18-19-20). De plus, la comparaison des deux isothermes de la figure 22 amène plusieurs remarques :

Pour l'isotherme obtenue par la technique I : au point A, l'aire par monomère est égale à 38,5 A^2 ; au point B, la pression est égale à 45 dynes $.cm^{-1}$, tandis que l'aire par monomère est de 24 A^2 ; l'isotherme obtenue par la technique II : au point A', l'aire par monomère est égale à 46 A^2, au point B' la pression est égale à 15 dynes$.cm^{-1}$ et l'aire par monomère est égale à 33 A^2. Ces deux types de courbe présentent des points d'inflexion à différentes valeurs de la pression et, respectivement, pour des aires par monomère de 38 et 30 A^2. Par ailleurs, les stéréomodèles utilisés permettent d'évaluer la section droite d'un monomère à 43,5 A^2. Cette valeur est intermédiaire entre celle correspondant aux points A et A' obtenus par les techniques I et II. La différence entre les résultats obtenus pour des films étalés par les deux techniques peut être due à l'inclusion de différentes quantités de solvant dans la couche étalée. Il a été vérifié que les solvants polaires(39) peuvent être aussi retenus par des films étalés sur de grandes surfaces (car, en fait, les techniques I et II diffèrent aussi par les dimensions de la surface initiale d'étalement), c'est ce qui s'est vraisemblablement produit pour le P.S. 16, pour lequel le solvant d'étalement était en partie composé d'alcool méthylique, indispensable pour la mise en solution du polymère.

La signification physique des deux valeurs de la pression d'affaissement n'est pas claire. Aucune de celles-ci n'est égale

.../...

la pression d'étalement du P.S. 16 solide qui est inférieure à 1 dyne. cm^{-1}. On pourrait donc en conclure que la structure des phases, après "affaissement" (à pression élevée) et la structure du P.S. 16 d'origine, solide, sont différentes. Ce comportement est caractéristique surtout des macromolécules étalées en films car il diffère notablement de celui des acides à chaine courte (l'acide laurique,par exemple).

Les résultats des figures 18-19-20-21 montrent que, dans le domaine étudié, ni le changement de pH, ni la présence d'ions Calcium n'ont d'effet sur l'état du film,ce qui porterait à déduire que les films de P.S. 16 ne sont pas ionisés ou ne réagissent pas avec les ions Calcium ; en fait, les résultats reproduits sur les figures 9-10-23-24-25 infirment ceci. Ils démontrent nettement que le P.S. 16 est ionisé.

Donc, à partir des études de pressions superficielles de ces films, on peut dire que leur état est déterminé principalement par les interactions de Van der Waals, entre les parties non polaires de la molécule, alors que les interactions électrostatiques,dépendant de cette ionisation, semblent être négligeables.

Concernant les figures 17 et 22, on remarque que la pente des courbes est égale à "r" (taux de Calcium adsorbé par monomère du film de P.S. 16). Nous verrons qu'il existe une relation entre l'ionisation des groupes carboxyliques du film de P.S. 16 et l'interaction de ces groupes avec des cations , ainsi que peut le laisser prévoir l'effet du pH et de la force ionique sur la fixation du Calcium (fig. 23-24-25-26).

.../...

4 - CONFRONTATION AVEC LES RESULTATS DES MESURES DE POTENTIEL DE SURFACE.

Les mesures de pressions superficielles des films étalés de P.S. 16,et surtout les mesures directes d'adsorption d'ions Calcium radioactif sur ces films, permettent d'interpréter les résultats obtenus par l'étude des potentiels de surface de ces mêmes films étalés, dans les conditions identiques à celles de ce travail : densités superficielles, pH, force ionique et concentration en ions Calcium dans le substrat.

Les mesures d'adsorption d'ions Calcium 45, à différentes concentrations en ions Sodium dans la solution, montrent clairement qu'il s'agit d'un processus d'échange Calcium-Sodium. Nous utilisons les valeurs de potentiel de surface mesurées par Madame C. Thomas pour préciser les conditions de cet échange et, surtout, le mode de fixation des ions Calcium. Nous avons pris comme hypothèse le fait que, lors du processus d'échange Calcium-Sodium, chaque ion Calcium est fixé à un seul site négatif, la charge en excès étant neutralisée par un anion co-adsorbé.

En effet, Deamer et Cornwell (40) ont suggéré que les ions Calcium pouvaient se fixer, dans le cas de l'acide stéarique, soit au moyen d'une coordination, soit de l'association d'un ion à deux carboxylates voisins, ce qui mènerait à la condensation du film. Goerke et coll. (41), pour leur part, avaient noté l'indépendance de la pression de surface des films d'acide oléique à l'égard du Calcium. C'est une caractéristique commune aux films d'acide oléique et de P.S. 16. Ces résultats, semble-t-il, sont dépendants des distances entre sites ionisés. Pour les films d'acide oléique, les distances sont maintenues par la présence dans la chaine d'un coude, dû à la

présence d'une double liaison et, pour le P.S. 16, les carboxylates ionisés sont séparés par les groupes hexadecylvinylether. Ces distances, relativement grandes entre sites, peuvent empêcher ou gêner la fixation simultanée (par formation de paires) de plus d'un Calcium à plus d'un site chargé.

On peut donc écrire l'équation :

[23] $$\overline{Na^{o}} + Ca^{2+} \rightleftharpoons \overline{Ca}^{1+} + Na^{+}$$

ce qui veut dire qu'un site neutralisé par un Sodium, et, donc, non chargé, acquiert une charge par cette réaction. La constante thermodynamique correspondant à cet équilibre est la suivante : (compte tenu que l'écriture "Kech." concerne l'échange $\overline{Ca}^{+} \rightleftharpoons \overline{Na}^{o}$)

[24] $$Kech. = \frac{a_{\overline{Ca}^{1+}} \times a_{Na^{+}}}{a_{\overline{Na}^{o}} \times a_{Ca^{2+}}}$$

où les espèces surlignées sont en surface.

Nous pouvons écrire encore :

[24] $$Kech. = \frac{[\overline{Ca^{+}}]}{[\overline{Na^{o}}]} \cdot \frac{a_{Na^{+}}}{a_{Ca^{++}}} \cdot \frac{f_{\overline{Ca}^{+}}}{f_{\overline{Na}^{o}}}$$

où les valeurs entre crochets sont les concentrations et f les coefficients d'activité.

Nous pouvons écrire (Guntelberg-Annexe IV) que ce sont les interactions électrostatiques qui donnent la valeur d'excès ou la variation d'enthalpie molaire partielle de chaque ion:

.../...

$$[25] \qquad K\ T\ \mathrm{Log}\ f\ (\mathrm{ion}) = Z\ e\ \phi$$

où : Z = la charge de l'ion.

ϕ = le potentiel au niveau de cet ion.

En posant : Z = 1 pour le $\overline{Ca^{1+}}$ et Z = 0 pour $\overline{Na^{\circ}}$

Nous pouvons écrire :

$$[26] \qquad K.\ ech. = \frac{[\overline{Ca^{1+}}]}{[\overline{Na^{\circ}}]} \cdot \frac{a_{Na^+}}{a_{Ca^{++}}} \exp. \frac{e\ \phi_o}{k\ T.}$$

Dans ce travail, nous avons mesuré la concentration du Calcium en surface : $[\overline{Ca^{1+}}] = r\ \delta$.

mais Madame C. Thomas a mesuré la concentration totale des sites échangeables, soit $\alpha\ \delta$; par suite donc :

$$[\overline{Na^{\circ}}] = \alpha\ \delta - r\ \delta.$$

Ce qui permet d'écrire :

$$[27] \qquad K.ech = \frac{r/\alpha}{1-r/\alpha} \cdot \frac{a_{Na^+}}{a_{Ca^{++}}} \exp. \frac{e\ \phi_o}{k\ T}$$

Si nous définissons la constante K.app., de l'échange

$$\overline{Ca^{1+}} \rightleftharpoons \overline{Na^{\circ}} \qquad \text{comme étant :}$$

$$[28] \qquad K.app. = \frac{r/\alpha}{1-r/\alpha} \cdot \frac{a_{Na^+}}{a_{Ca^{++}}}$$

il vient :

$$[29] \qquad \mathrm{Log}\ K.app. = \mathrm{Log}\ K.ech. - \frac{e\ \phi_o}{k\ T}$$

Si nous supposons que c'est uniquement la charge en

excès apportée par la Calcium qui introduit une variation du potentiel de surface, nous pouvons écrire pour le potentiel ϕ au niveau du Calcium :

$$\phi = \Delta V - \text{Constante}$$

et [30] $$\text{Log K.app.} = \text{Log K. ech.} - \frac{e}{k\,T}(\Delta V - \text{Constante})$$

La valeur apparente de la constante d'équilibre correspondant à l'échange Calcium/Sodium peut décroître si la réaction apporte un accroissement du potentiel mesuré, avec la quantité d'ions Calcium adsorbé.

Cet accroissement du potentiel de surface est la conséquence du renversement des charges des sites dans la région τ (figure 27) et, éventuellement, du signe du potentiel ϕ_d de la couche diffuse dans la relation :

$$\Delta V = \phi_o + \text{Constante.} \qquad \text{(Annexe II).}$$

La figure 30 montre l'effet de l'augmentation de la concentration en ions Calcium dans le substrat à pH 7,5 (c'est à dire lorsque le degré de dissociation est égal à 1) et à force ionique constante, sur le potentiel de surface ΔV mesuré.
La figure 31 donne l'effet de la concentration en ions Sodium dans le substrat à pH 7,5 et à concentration en ions Calcium constante. Sur les mêmes figures, nous avons noté les pourcentages de Calcium, r, adsorbé en surface et mesurés dans les mêmes conditions.

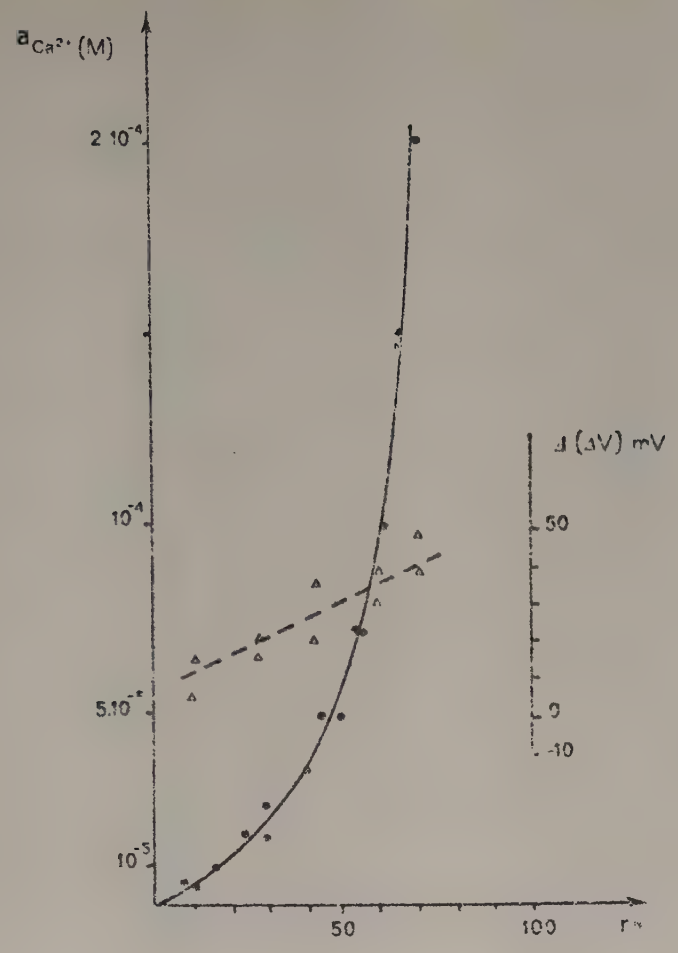


Fig 30 : Effet de l'augmentation de la concentration en ions Calcium dans le substrat sur le potentiel de surface des films de P.S. 16.

- - Δ - - Variation de ΔV en fonction de r (% d'ions Calcium par monomère à pH 7,5). $[Na^+]$ dans la solution : 6,6 10^{-3} M

——— Isotherme d'adsorption des ions Calcium sur un film de densité de surface $\delta = 9{,}25\ 10^{14}$ monomères/cm^2 (reproduit à partir de la figure 24).

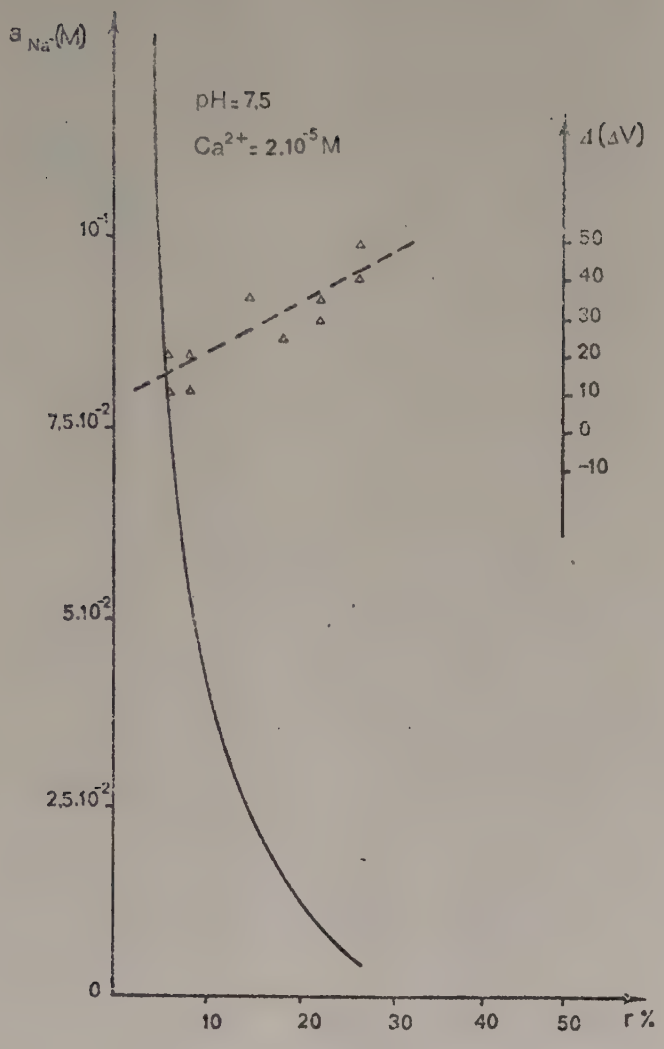


Fig. 31 : Effet du déplacement des ions Calcium liés, par les ions Sodium, sur le potentiel de surface des films de P.S. 16. $\left[Na^+\right]$ de la solution varie. pH : 7,5 ; δ = 9,25 10^{14} monomères par cm^2 ; $\left[Ca^{2+}\right]$ de la solution = 2,10^{-5} M.
-- Δ -- : variation de Δ V en fonction de r (% d'ions Calcium liés par monomère).
———— : Isotherme d'adsorption des ions Calcium sur un film de densité δ, reproduit à partir de la figure 24.

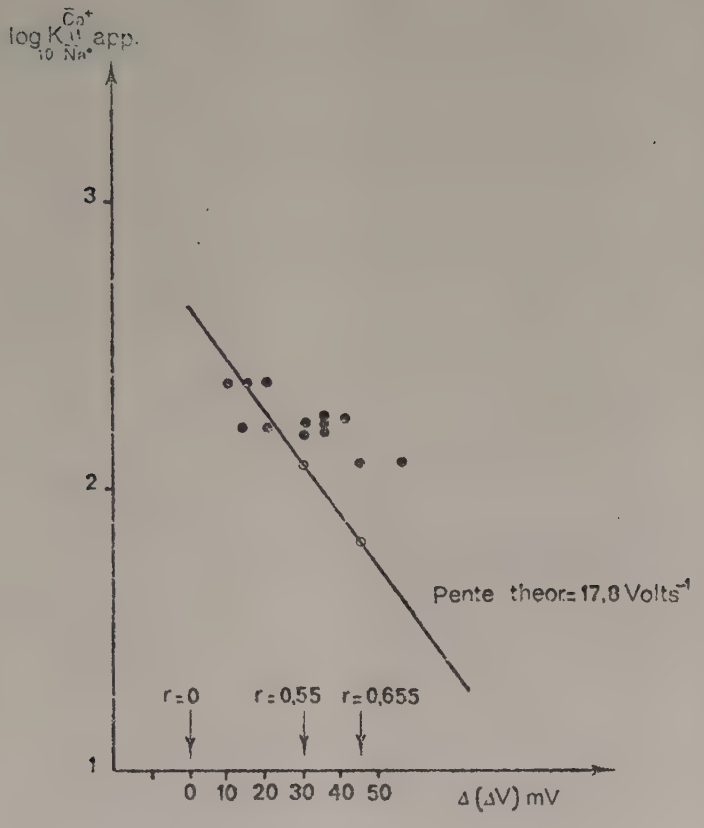


FIG 32.

Fig. 32 : Log $K_{app.}$ ($\overline{Ca^+} \rightleftharpoons \overline{Na^\circ}$) en fonction des variations de Δ(ou Δ (Δ V))quand la concentration des ions Calcium dans la solution varie.

La variation de Δ V (ou Δ (Δ V)) est la différence entre le potentiel de surface des films de P.S. 16 en présence et en absence d'ions Calcium. La ligne droite a une pente théorique de 17,8 $volt^{-1}$ en accord avec la relation [30] .

"Densité superficielle du P.S. 16 : $0,925.10^{15}$ monomères par cm^2".

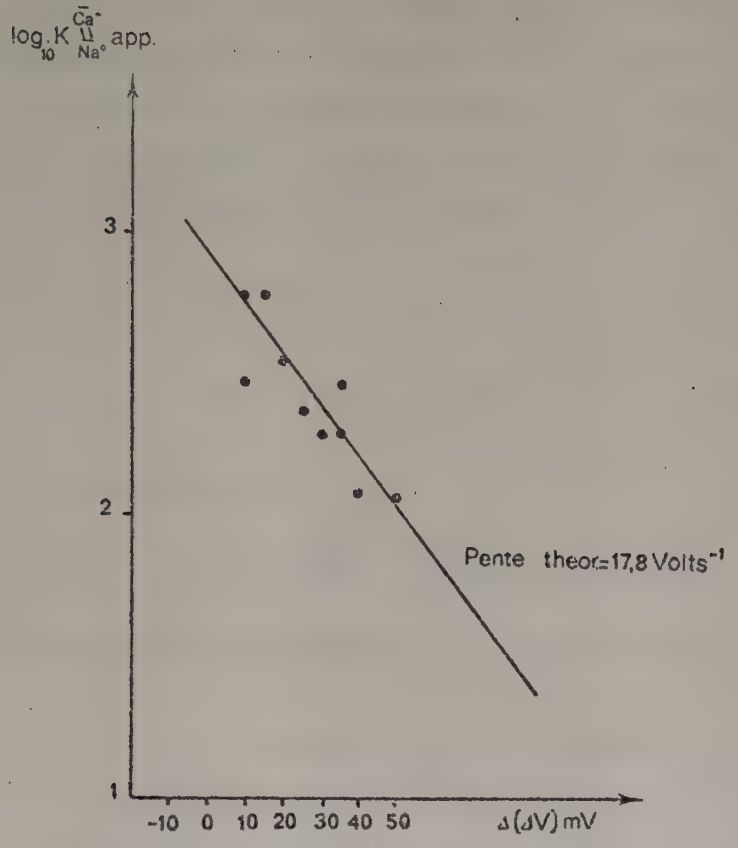


FIG 33.

Fig 33 : Log K_{app} ($\overline{Ca}^{+} \rightleftharpoons \overline{Na}^{\circ}$) en fonction de Δ V présente une variation quand la concentration des ions Sodium dans la solution varie. La ligne droite a une pente théorique de 17,8 $volts^{-1}$ en accord avec la relation [30].

"Densité superficielle du P.S. 16 : $0{,}925.10^{15}$ monomères par cm^2".

La figure 28 représente l'effet du pH sur le pourcentage de Calcium fixé. Nous le comparons aux valeurs de Δ V mesurées en fonction du pH et en absence d'ion Calcium : pour la concentration en ions Calcium dans le substrat, 5.10^{-5} M, utilisée, la quantité de Calcium fixée est trop basse pour changer de manière significative les valeurs de Δ V à un pH donné.

La relation :

$$\text{Log K.app.} = \text{Log K'. ech.} - \frac{e}{k\,T}\,\Delta V$$

a été vérifiée en portant :

$$\text{Log.}\frac{r/\alpha}{1-r/\alpha} \cdot \frac{a_{Na^+}}{a_{Ca^{++}}}$$

en fonction des potentiels de surface mesurés par Madame C. Thomas.

Les figures 32,33 et 34 montrent que lorsqu'on augmente la concentration en Calcium ionique, dans la solution, ou lorsque l'on augmente le pH, Log_{10} K. app. varie linéairement avec le potentiel de surface et la droite obtenue a pour pente $-\frac{e}{2{,}3\ kT} = 17{,}8\ \text{volts}^{-1}$.

(VOIR FIGURE PAGE SUIVANTE)

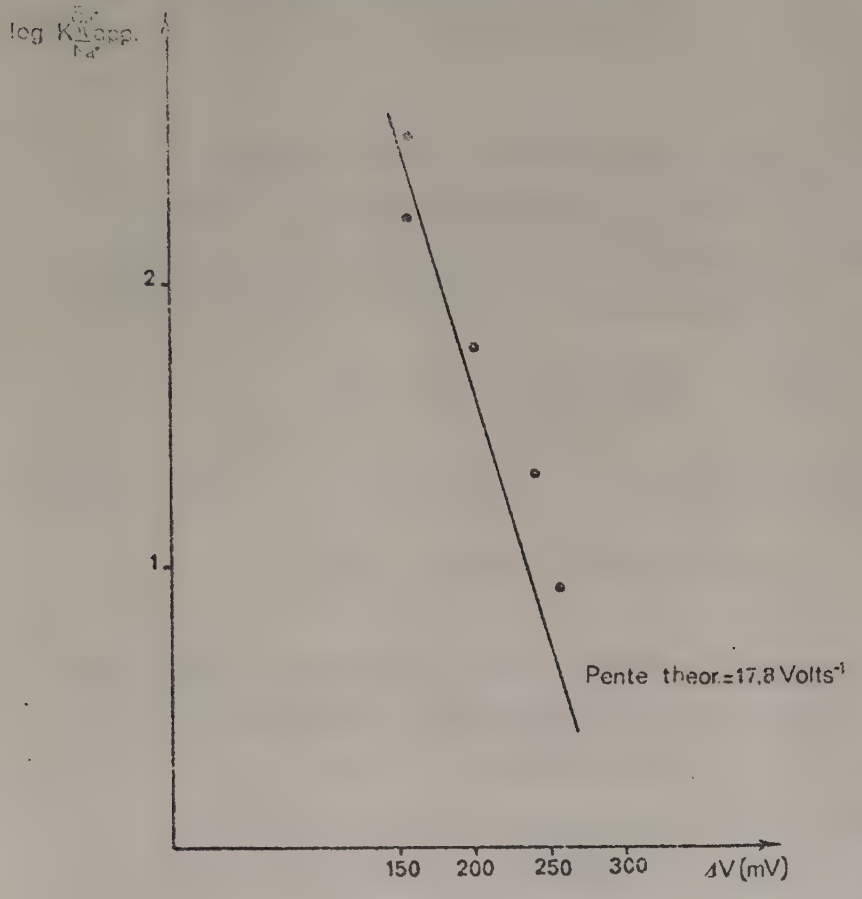


FIG 34.

Fig 34 : Log $K_{app.}$ $(\overline{Ca^{+}} \rightleftharpoons \overline{Na^{\circ}})$ en fonction de Δ V quand le pH varie dans le substrat.

$[Na^{+}]$ dans la solution : $6,6\ 10^{-3}$ M.

$[Ca^{2+}]$ dans la solution : 2.10^{-5} M.

$\delta = 0,925\ 10^{14}$ monomères par cm^{2}.

La ligne droite a une pente théorique de $-17,8$ $volts^{-1}$.

La courbe 2 fig. 28 représente les isothermes d'adsorption des ions Calcium liés.

3 - CONSEQUENCES BIOLOGIQUES.

Ainsi que nous l'avons demontré dans cette étude, il y a déplacement des ions Calcium par les ions Sodium et inversement, au niveau des sites négatifs du P.S. 16;par le simple jeu des concentrations, on peut déplacer la réaction :

$$\overline{Na}^{\circ} + Ca^{++} \underset{2}{\overset{1}{\rightleftharpoons}} \overline{Ca}^{1+} + Na^{+}$$

dans le sens 1 ou 2 ; et il en est de même de la réaction :

$$2\,\overline{Na}^{\circ} + Ca^{++} \underset{2}{\overset{1}{\rightleftharpoons}} \overline{Ca}^{\circ} + 2\,Na^{+}$$

ce qui amène à postuler, pour un certain temps, du moins, pour un modèle membranaire, intermédiaire entre celui de J.A. Lucy et M.Glauert et celui de Danielli-Dawson.

Dans le modèle de Lucy, le composant lipidique joue un double rôle, de matrice et d'échangeur, les ions Calcium mettant en jeu leur deux valences entre deux phospholipides (figure page 72).

Dans le modèle de Danielli, les lipides n'ont qu'un rôle de matrice et ne participent pas aux réactions d'échange.

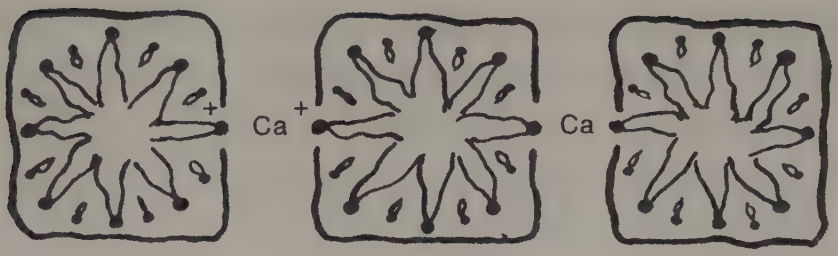
Le modèle que nous pourrions être amenés à proposer serait un modèle semblable à celui de Lucy, admettant pour le Calcium :

1) des liaisons mettant en jeu ses deux valences pour constituer un pont Calcium entre les groupes chargés négativement, appartenant aux protéines membranaires tapissant les têtes polaires lipidiques. La stabilité mécanique des membranes serait assurée par ce type de liaison.

2) des liaisons ne mettant en jeu qu'une valence du Calcium, l'autre valence étant neutralisée par un co-anion de la solution, adsorbé. Ce type de liaison étant responsable de la conductance et du maintien de la polarisation membranaire.

(VOIR FIGURES PAGE SUIVANTE)

MODELE DE LUCY

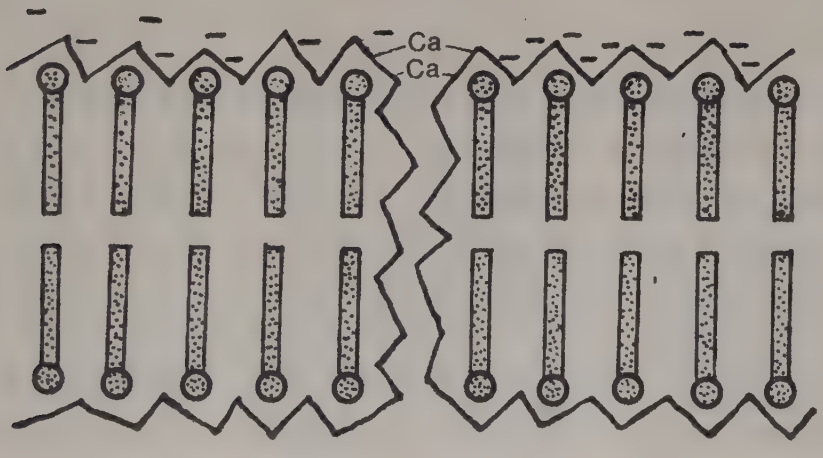


phospholipides

cholesterol

proteines

MODELE DANIELLI



proteines

molécule lipidique :

pôle hydrophile

pôle hydrophobe

Les faits suivants semblent justifier cette proposition :

En effet, on connaît le rôle lytique et l'action toxique des ions Sodium sur les membranes biologiques, rôle inhibé et même supprimé par l'apport d'ions Calcium libres, dans le milieu et en très faible quantité. Avec les modèles membranaires indiqués, ci-dessus, il apparaît clairement que la cohésion des éléments constitutifs de la membrane est assurée par le Calcium formant des ponts, cette cohésion étant compromise par le déplacement du Calcium par un excès de Sodium ou, tout simplement, la suppression du Calcium libre dans le milieu extérieur de la membrane.

De plus, l'apport de charges Ca^{1+} sur les sites négatifs de la membrane a tendance à augmenter, par effet inductif, (attraction du nuage électronique) la dissociation des résidus acides voisins et, donc, à favoriser entre éléments globulaires la formation de ponts Calcium, opposant autant de barrières aux ions Sodium et pouvant mener à un état d'hyperpolarisation. Ce fait est confirmé par l'expérience.

Pour les membranes nerveuses, l'augmentation du Calcium ionique joue un rôle-clef pour commander la perméabilité et déterminer le potentiel de membrane (aux états de repos ou aux états excités). Le nombre de ponts augmentant entre les éléments membranaires, il faudra un stimulus plus élevé pour amener la dépolarisation permettant le passage des ions Sodium, après rupture des ponts Calcium. Inversement, à la diminution des ponts Calcium correspond une diminution de la polarisation de la membrane et une diffusion plus libre des cations Sodium (tétanisation).

Mais le schéma structural ci-dessus indiqué explique mal la perméabilité membranaire aux substances telles que molécules polaires, surtout quand elles sont ionisées. Nous savons, cependant,

.../...

que les membranes excitables sont, au repos, très perméables à certains ions tels que le Potassium, très peu à d'autres, tels que le Sodium, cette situation se modifiant au cours de l'activité (excitation liminaire, potentiel d'action, repolarisation par fonctionnement des pompes métaboliques).

Ces faits suggèrent deux hypothèses :

- a - Le rôle prédominant joué par les protéines dans le fonctionnement des membranes (perméabilité, sélectivité, etc...), les lipides jouant surtout le rôle de matrice.

- b - A la manière d'un filtre, ces membranes sont percées d'orifices ou de pores d'un diamètre déterminé ; d'ailleurs Danielli complétant son schéma de stucture (fig. 36) admet que ces pores ont des parois faites de molécules protéiques, donc tapissées de nombreux groupes polaires, ce qui assure une entrée facile de molécules hydrophiles, et, même, de particules chargées, si l'on admet que certains radicaux portent des charges de signe convenable.

Avant d'aborder la comparaison de nos résultats avec ceux de B. Hille, il convient de préciser les notions de conductance membranaire et de courant aux ions Sodium et Potassium ; pour ce faire, il a été nécessaire d'employer une technique particulière, dite de potentiel imposé ou de "voltage clamp".

- a - Etude des flux ioniques : l'étude des flux ioniques, transmembranaires durant le potentiel d'action, se trouve très compliquée par deux causes principales : d'une part, du fait de la rapidité des phénomènes (en particulier, de celle de la repolarisation membranaire), et, d'autre part, en raison de l'influence de courants locaux qui s'établissent durant le potentiel d'action entre la zone membranaire dépolarisée et les régions adjacentes de la polarisation

.../...

normale, ce qui entraîne des déplacements de charges, donc des mouvements ioniques longitudinaux perturbateurs : ces deux obstacles sont levés par l'utilisation de la méthode de voltage imposé. Elle repose sur un double principe :

1 - On porte à un potentiel déterminé une grande longueur de fibre, ce qui empêche la propagation du potentiel d'action, élimine les courants locaux perturbateurs et permet, surtout, de décharger la capacité de la membrane.

2 - On peut analyser convenablement les flux de courants ioniques traversant la membrane en fonction de la polarisation de celle-ci ; on les prolonge à loisir en ne leur permettant pas de rétablir la polarisation membranaire à son niveau de repos.

Grâce à cette méthode, il est aisé , dès lors, de séparer les différents courants ioniques K^+, Na^+, Ca^{++} par l'emploi d'inhibiteurs spécifiques, ce qui permet d'établir les courbes courant-potentiel des divers ions à un instant choisi (fig. 37-38)

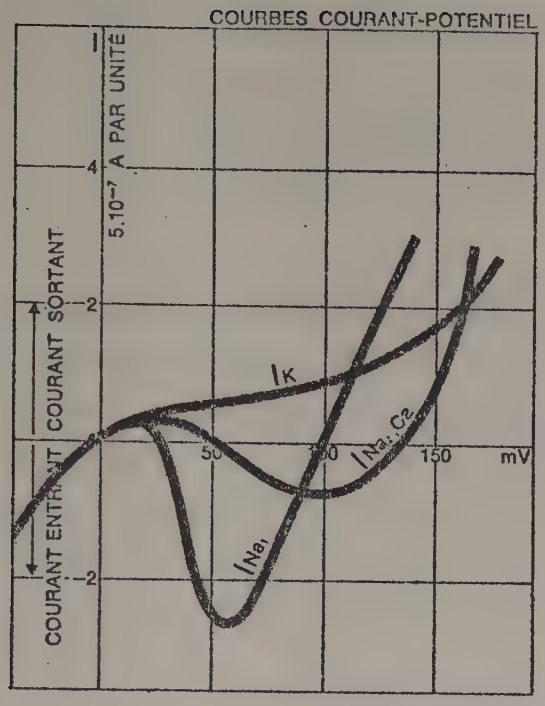

COURBES COURANT-POTENTIEL
5.10⁻⁷ A PAR UNITÉ
COURANT SORTANT
COURANT ENTRANT
4
2
-2
50
150
mV
I_K
I_{Na_1}
I_{Na_1,Ca_2}

FIG 37

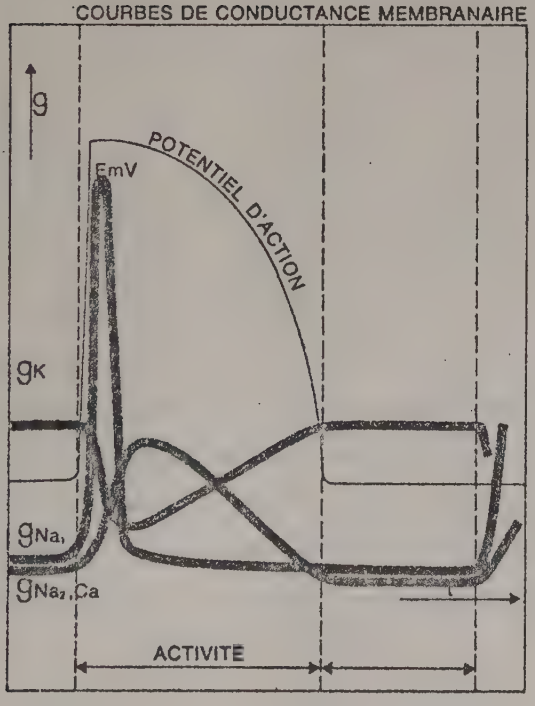

COURBES DE CONDUCTANCE MEMBRANAIRE
g
EmV
POTENTIEL D'ACTION
g_K
g_{Na_1}
$g_{Na_2,Ca}$
ACTIVITE

FIG 38

- b - Notion de conductance membranaire aux ions Sodium et Potassium durant le potentiel d'action.

Au cours de l'évolution du potentiel d'action, l'intensité des courants entrant et sortant, qui traversent la membrane, se modifient dans ce temps, même lorsque le niveau de potentiel auquel est "clampé" la membrane, demeure stable, ce qui signifie que si l'on se rapporte à la loi d'Ohm : $I = \frac{E}{R}$, E étant constant (niveau de "clampage"),les variations de I ne peuvent être dues qu'à celles de R pour l'ion considéré. On peut dire que la résistance membranaire aux courants portés par les ions Sodium ou Potassium varie dans le temps. Cependant pour la commodité des calculs, au lieu de partir de la résistance de la membrane, dont les variations sont inversement proportionnelles à l'intensité du courant, on préfère employer l'inverse de celle-ci, c'est à dire la conductance (g) exprimée en mhos ou mmhos, ainsi I et g varient dans le même sens.

La modification du potentiel de membrane du nerf sciatique de la grenouille, aux noeuds de Ranvier, a été étudiée par B. Hille. Les figures 28-39-40 rendent compte des résultats concernant l'étude de l'effet du pH et du Calcium ionique sur les courants Sodium aux noeuds de Ranvier pendant le potentiel d'action. Ces courants et la conductance membranaire dépendent du potentiel de surface de la membrane ; de plus, le pH et la fixation du Calcium modifient ce potentiel. Ces modifications sont représentées par les variations des courbes de potentiel, dépendant pour leur part des potentiels de membrane. C'est ultérieurement qu'on a déduit le fait que le pH, modifiant l'ionisation des groupes carboxyliques dans la membrane, modifiait aussi la conductance de celle-ci.

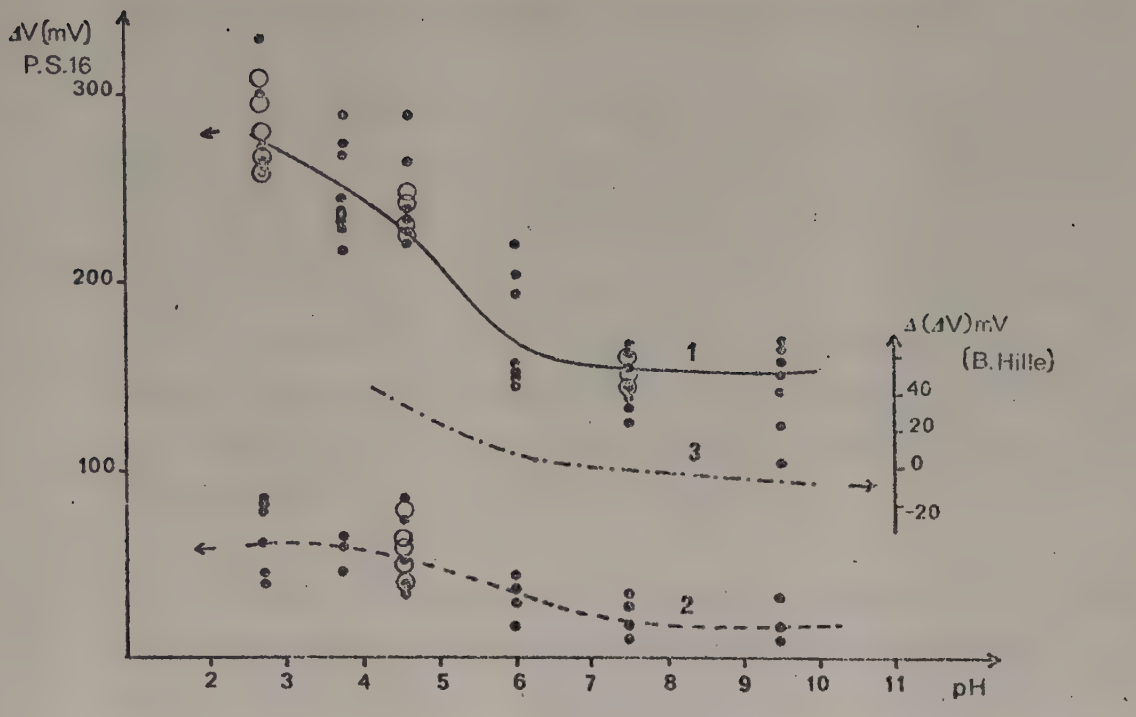


FIG 39.

Fig. 39 : Potentiel de surface Δ V en fonction du pH à δ (monomères.cm^{-2}), C_{Na^+} dans la solution constantes et en absence d'ions Calcium.

Courbe 1 : $\delta \geq 2{,}42\ 10^{14}$ monomères/cm^2.

Courbe 2 : $\delta = 0{,}32.\ 10^{14}$ monomères/cm^2

• : C_{Na^+} en solution : $6{,}6\ 10^{-3}$ M. (force ionique 10^{-2}M)

o : C_{Na^+} en solution : $1{,}06\ 10^{-1}$ M. (force ionique 10^{-1}M)

Courbe 3 : Variation de Δ V aux noeuds de Ranvier (B. Hille).

La figure 39 permet de comparer les variations dûes aux modifications du pH biologique, avec les variations du potentiel de surface, mesurées sur notre film monomoléculaire de P.S. 16.

Il semble que la structure responsable de la conductance membranaire se comporte comme un film de résidus d'acide maléique d'une densité de groupes carboxyliques d'environ 10^{14} groupes/cm^2. Sur la figure 39, on peut voir que les valeurs de pK_o trouvées par B. Hille et par nous, pour différentes forces ioniques, sont identiques. ($pK_o \simeq 4,3$). Sur la figure 28, l'accroissement de la conductance maximale de la membrane aux ions Sodium, $\overline{g}_{Na}{}^{+}$, avec le pH est comparée à nos valeurs trouvées pour la mesure du degré de la première ionisation de l'acide maléique.

Sur la figure 40, la variation du potentiel de la membrane biologique, avec la fixation d'ions Calcium, est comparée à la variation de notre potentiel de surface mesuré sur les films de P.S. 16 à pH 7,5 ; les domaines de concentration en ions Calcium dans le sein de la solution sont différentes de celles des milieux biologiques. Il en est de même pour les concentrations en ions Sodium qui sont différentes pour nos films étalés et les expériences de B. Hille sur les membranes biologiques ; mais, en vertu des expressions 23,24,26,27,28,29, seuls les rapports $\frac{[Na^+]}{[Ca^{++}]}$ dans le sein de la solution sont déterminants ; de plus, ils sont du même ordre de grandeur.

En outre, les pentes des courbes sont qualitativement les mêmes et on vérifie , aussi, le mécanisme suggéré par les relations page 63 , qui rend compte de l'effet de l'ion Calcium sur la perméabilité passive des membranes nerveuses aux ions Sodium.

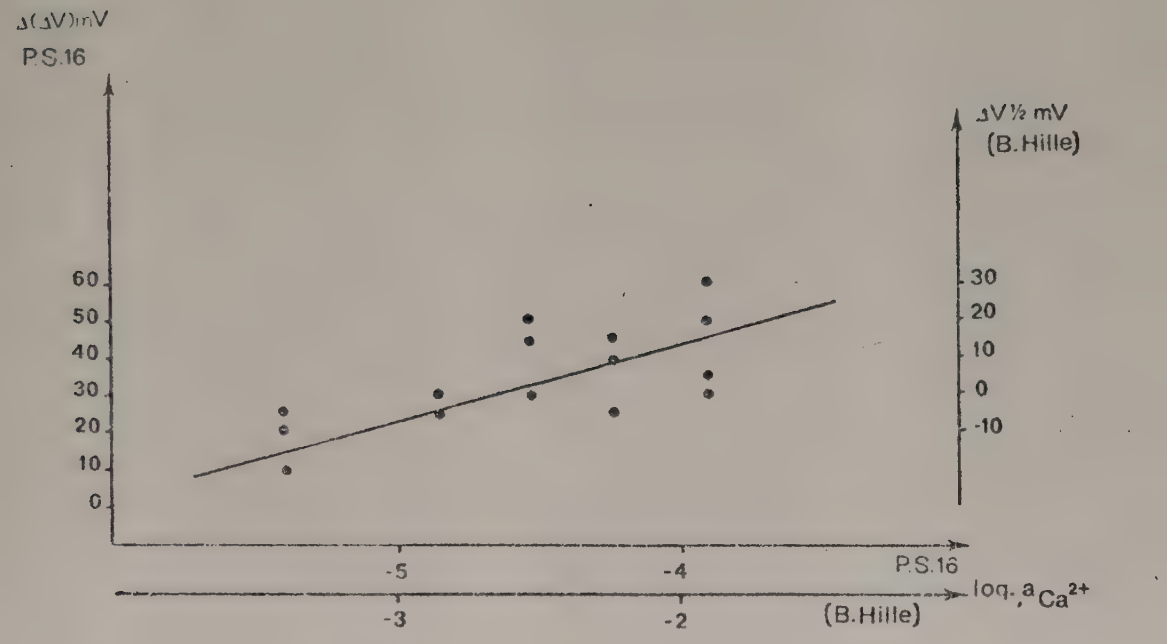


FIG 40.

Fig.40 : Comparaison entre l'effet des ions Calcium liés : 1) sur le potentiel de membrane biologique et 2) sur le potentiel de surface des couches monomoléculaires de P.S. 16. étalé.
La ligne droite : variations du potentiel de membrane biologiques calculé par B. Hille (5) (21).
Les points : variations du potentiel de surface des couches monomoléculaires mesurées à pH 7,5 et $\delta = 2{,}42\ 10^{14}$. résidus/cm^2.

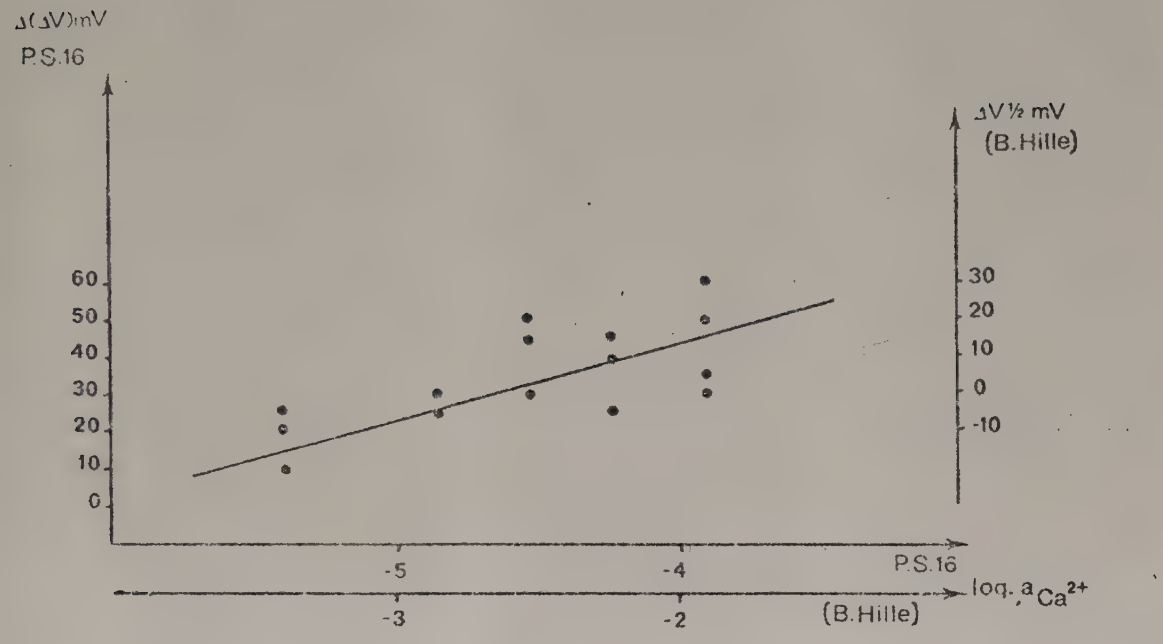


FIG 40.

Fig.40 : Comparaison entre l'effet des ions Calcium liés : 1) sur le potentiel de membrane biologique et 2) sur le potentiel de surface des couches monomoléculaires de P.S. 16. étalé.
La ligne droite : variations du potentiel de membrane biologiques calculé par B. Hille (5) (21).
Les points : variations du potentiel de surface des couches monomoléculaires mesurées à pH 7,5 et $\delta = 2{,}42\ 10^{14}$. résidus/cm^2.

VIII - CONCLUSIONS

De cette étude, il ressort plusieurs conclusions ; la structure du P.S. 16 en couches étalées à la surface d'un support aqueux est rigide , la variation des interactions électrostatiques (modification de la force ionique ou du pH) n'affecte pas sensiblement sa configuration. Le potentiel de surface est influencé par l'équilibre apparent des réactions ioniques (dissociation et échange), il pourrait en être de même à la surface des membranes biologiques dont on peut penser que les sites spécifiques responsables de la conduction membranaire sont aussi des groupes carboxyliques : plusieurs raisons nous permettent de renforcer cette hypothèse : la coincidence des pK_o de dissociation des groupes anioniques dans les membranes et dans le P.S. 16, étalé en couches ; le parallélisme étroit existant entre l'effet du Calcium sur le potentiel d'interface des couches étalées par rapport à la solution support et la membrane biologique, par rapport au milieu extracellulaire.

Ces constatations jettent un doute sur la validité de diverses hypothèses concernant la nature et le fonctionnement des membranes. On admet, selon l'une des hypothèses, que la perméabilité est assurée par les phospholipides membranaires et, selon l'autre hypothèse, la variation de perméabilité de la membrane biologique serait dûe aux changements de structure des protéines membranaires.

L'hypothèse de Danielli, completée par celle de Hodgkin, reprendrait toute sa signification ; on aboutirait alors à un schéma du type suivant : deux feuillets lipidiques tapissés de protéines et contenant différents pores de tailles variables et spécifiques de chacun des ions principaux, concernés par la perméabilité.

- A N N E X E S -

ANNEXE (I)

Calcul de la concentration en ions Ca^{2+} libres en présence d'ions phosphates complexants, dans une solution.

Cette méthode de calcul est une adaptation de celle proposée par Caldwell (**32**) pour la détermination de la concentration en ions Ca^{2+} libres dans une solution contenant à la fois Ca^{2+}, Mg^{2+} et un agent complexant tel que l'E.D.T.A. ou l'E.G.T.A.

Les solutions tampons utilisées sont préparées à partir des sels de phosphates. Leur force ionique est 10^{-2} M environ. Le Ca^{2+} y est complexé essentiellement sous forme de Ca H PO_4 selon l'équilibre :

$$Ca^{2+} + H\,PO_4^{2-} \rightleftharpoons Ca\,H\,PO_4$$

avec :

$$(1)\quad K_{Ca\,H\,PO_4} = \frac{[Ca\,H\,PO_4]}{[Ca^{2+}][H\,PO_4^{2-}]} = 10^{1,95} \quad (25°C,\ \mu = 10^{-2}M)$$

Nous négligeons la formation de Ca H_2 PO_4^+ dont la constante d'association est d'environ 50 fois plus petite.

Nous devons également tenir compte de l'interaction des ions $[H^+]$ avec les ions phosphates. A 25°C, et pour une force ionique 10^{-2} M, les constantes correspondant à la dissociation en trois étapes d'acide phosphorique sont :

$$(2)\quad \frac{[1]}{K_1} = \frac{[H^+]\,[H_2\,PO_4^-]}{[H_3\,PO_4]} = 10^{-2,1}$$

.../...

$$(3)\quad \frac{1}{K_2} = \frac{[H^+]\ [H\,PO_4^{2-}]}{[H_2\,PO_4^-]} = 10^{-7,2}$$

$$(4)\quad \frac{1}{K_3} = \frac{[H^+]\ [PO_3^{3-}]}{[H\,PO_4^{2-}]} = 10^{-12,3}$$

A pH donné, nous pouvons définir une constante apparente correspondant à l'équilibre :

$$Ca\,H\,PO_4 \rightleftharpoons Ca^{2+} + L\ total$$

$$(5)\quad K'_{Ca\,H\,PO_4} = \frac{[Ca\,H\,PO_4]}{[Ca^{2+}]\ [L\ total]}$$

où $[L\ total]$ est la concentration en ions phosphate non complexés

Il vient :

$$(6)\quad \frac{K_{Ca\,H\,PO_4}}{K'_{Ca\,H\,PO_4}} = \frac{[L\ total]}{[H\,PO_4^{2-}]}$$

Approximativement :

$$[L\ total] = [H_3\,PO_4] + [H_2\,PO_4^-] + [H\,PO_4^{2-}] + [PO_4^{3-}]$$

Tenant compte de (2), (3) et (4), l'équation (6) s'écrit :

$$(7)\quad K'_{Ca\,H\,PO_4} = \frac{K_{Ca\,H\,PO_4}}{K_1 K_2 [H^+]^2 + K_2 [H^+] + 1 + \frac{1}{[H^+] K_3}}$$

Si c et L sont respectivement les concentrations en Ca^{2+} et phosphates mis initialement dans la solution, appelant x la

fraction de Ca^{2+} complexé par ion Ca^{2+} initial, l'équation (5) devient :

$$(8) \qquad K'_{Ca\,H\,PO_4} = \frac{x}{(1-x)(L-cx)}$$

A partir des équations (7) et (8), nous avons construit, pour les différents pH utilisés, les abaques donnant la concentration en Ca^{2+} libre, soit c (1-x) en fonction de la concentration en Ca^{2+}, initiale. Dans toutes nos expériences $L = 3{,}3\ 10^{-3}$ M. Ces abaques nous ont permis dé connaître rapidement la concentration en Ca^{2+} libre dans les solutions utilisées.

ANNEXE(II)

Le film et son potentiel de surface.

Dans son interprétation, se référant à la littérature concernant les polyélectrolytes, Madame C. Thomas utilise un modèle d'interface pénétrable, avec formation de paires d'ions entre les carboxylates et les petits ions qui perdent alors partiellement leur eau d'hydratation.

La figure (27) montre les 4 types possibles de résidus, a, b, c, d, pour le film de P.S. 16 étudié. Parmi les résidus a, b, c, ionisés, a et b sont neutralisés par les contre ions M^{z1+} et M^{z2+} sous forme de paires d'ions s'étendant à une profondeur d'environ $x = \tau$; "c" est neutralisé par les contre ions de la couche diffuse en dessous du plan $x = d$. Ce plan sépare la région des ions appariés (R.I.A.) de la région des ions non appariés (R.I.N.A.). On peut définir la distance "d" comme la distance de plus grande approche pour les ions ou co-ions non adsorbés. On peut aussi définir "d" telle que pour $x \geq d$, l'énergie libre électrostatique de l'ion chargé est inférieure à l'énergie d'agitation thermique :

$$Z e \psi_x \leq k T.$$

La pénétration des contre ions M^{z1+} et M^{z2+} diminue la densité nette de charge neutralisée par la couche diffuse. Mais les paires d'ions formées deviennent comme des dipôles discrets et contribuent au potentiel "η" produit par les dipôles du film et des molécules d'eau. Soient δ_1 et δ_2 le nombre de paires d'ions formés par unité de surface pour les contre ions M^{z1+} et M^{z2+} et P_1 et P_2

.../...

leur moment dipolaire effectif, tenant compte de leur orientation et de la constante diélectrique du milieu.

La contribution $\Delta \eta_{P.I.}$ des paires d'ions au potentiel de surface est égale à :

$$\Delta \eta_{P.I.} = \eta_{P.I.} - \eta_{H_2O} = 4\pi (\delta_1 \overline{P_1} + \delta_2 \overline{P_2})$$

Le terme η_{H_2O} correspond à l'effet de réorientation des molécules d'eau en surface et la variation de la constante diélectrique du milieu, en l'absence et en présence du film. La contribution des groupes polaires non dissociables du film au potentiel de surface $\Delta \eta_f$ est égale à :

$$\Delta \eta_f - \Delta \eta_{(P.I)} = 4\pi \delta \overline{P_u} + 4\pi \delta (1-\alpha) \cdot \overline{P_{OH}}$$

où $\overline{P_u}$ est le moment dipolaire effectif d'un résidu diminué du moment dipolaire effectif d'un hydroxyle $\overline{P_{OH}}$ et où α est le degré de dissociation de ce résidu

En définitive :

$$\Delta V = \Delta \eta_f + \phi_d$$

où ϕ_d est le potentiel calculé par Gouy au plan x = d.

$$\phi_d = \frac{2kT}{e} \sinh^{-1} \sigma \left(\frac{10^3 \cdot \pi}{2\varepsilon C k T} \right)^{1/2}$$

où σ est la densité de charges nettes au plan x = d et C la force ionique du substrat.

On obtient donc :

.../...

$$\Delta V = 4 \pi \delta \overline{P_u} + 4 \pi \delta (1 - \alpha) \overline{P_{OH}} + 4 \pi \delta_1 \overline{P_1} + 4 \pi \delta_2 \overline{P_2} + \phi_d$$

Mais le P.S. 16 est complexe, la configuration de sa molécule peut être telle que ses dipôles se situent en dessous du plan x = o des charges dans la région τ et contribuent au potentiel ϕ_o . On peut écrire que :

$$\phi_o = 4 \pi \delta (1 - \alpha) \overline{P_{OH}} + 4 \pi \delta_1 + \overline{P}_1 + 4 \pi \delta_2 \overline{P}_2 + \phi_d$$

c'est à dire :

$$\Delta V = \text{Constante} + \phi_o$$

ANNEXE (III)

DETERMINATION DU DEGRE DE DISSOCIATION α DU FILM DE P.S. 16 EN SURFACE.

En l'absence de Calcium, Madame C. Thomas trouve des courbes de potentiel de surface à densité superficielle constante qui ressemblent à des courbes de titrages potentiométriques, analogues à celles de l'acide stéarique effectuées par Goddard (42). A pH constant, il n'y a pas d'effet de sel sur le potentiel de surface dans la limite de la précision expérimentale. Par ailleurs, Goddard , dans son étude des films d'acide stéarique, montre que la chute totale de potentiel de surface, entre pH 2 et pH 12, est de l'ordre de 400 mV, cette chute se produit en deux parties. La première,entre pH 2 et pH 9 , est de 200 mV, il l'attribue à la formation d'un sel neutre. Pour le P.S. 16, le premier saut d'environ 200 mV, aussi, peut être attribué à la dissociation du 1er groupe - COOH de l'acide maléique. La dissociation du 2ème groupe a lieu à un pK trop élevé pour qu'elle puisse se produire, même aux pH les plus élevés utilisés dans ce travail (pH max. = 10). C'est pourquoi il est possible qu'à pH 2,7 $\alpha = 0$ et à pH $\geq$ 9 $\alpha = 1$ (α variant de 0 à 2) .

En conséquence, dans l'expression de ΔV, si $\delta_2 = 0$, en absence de Calcium, et $\alpha\,\delta = \delta_1$ et si ϕ_d est négligeable devant ϕ_o , Madame C. Thomas obtient :

$$\frac{\Delta V}{4\pi\delta} = \overline{P_u} + \overline{P_{OH}} + \alpha\,(\overline{P_1} - \overline{P_{OH}})$$

Quand :

$$\alpha = 0, \quad \frac{\Delta V_{(\alpha=0)}}{4\pi\delta} = \overline{P_u} + \overline{P_{OH}}$$

.../...

Quand :

$$\alpha = 1 \quad \frac{\Delta V_{(\alpha=1)}}{4 \pi \delta} = \overline{P_u} + \overline{P_l}$$

Par suite, il vient une expression simple de α, degré de dissociation du P.S. 16 en surface, fonction linéaire du potentiel de surface.

$$\alpha = \frac{\Delta V - \Delta V_{(\alpha=o)}}{\Delta V_{(\alpha=1)} - \Delta V_{(\alpha=o)}}$$

ANNEXE (IV)

RELATION ENTRE LA CONSTANTE APPARENTE DE DISSOCIATION DU FILM ET LE POTENTIEL DE SURFACE.

Madame C. Thomas remarque que les couches minces de polyélectrolytes sont des systèmes hétérogènes, cependant analogues aux solutions homogènes d'électrolytes. Pour ces dernières, en l'absence de champ électrique appliqué, il ne peut y avoir d'énergie électrostatique qu'en tant que fonction thermodynamique d'excès. Selon Debye et Guntelberg, seules des perturbations locales de densité ionique (dûes à l'agitation thermique) autour d'un potentiel électrostatique moyen nul, permettent d'expliquer les interactions et les coefficients d'activité des ions. Pour le système que nous étudions, c'est l'interface polyélectrolyte-solution aqueuse qui introduit une perturbation locale donnant lieu à une adsorption sélective des ions, à l'ionisation des groupes superficiels, etc... Les interactions électrostatiques résultantes donnent une valeur d'excès à la variation d'enthalpie molaire partielle pour chaque espèce chargée et on peut écrire, avec Guntelberg :

$$R\ T\ \mathrm{Log}\ f_{ion.g.} = N\ Z\ e\ \phi \qquad (43)-(44)$$

ou f_{ion} est le coefficient d'activité de l'espèce chargée considérée, Z sa charge, ϕ le potentiel à son niveau et N est le nombre d'Avogadro.

L'équilibre de dissociation des groupes carboxyliques du P.S. 16 peut être représenté par l'équation :

$$-\overline{COOH} \rightleftharpoons \overline{COO^-} + H^+$$

où les espèces surlignées sont en surface et où H^+ est en solution

La constante d'équilibre de cette réaction est égale à :

$$K_o = \frac{a_{\overline{COO^-}} \times a_{H^+}}{a_{COOH}} = \frac{\alpha}{1-\alpha} \times \frac{f_{\overline{COO^-}}}{f_{\overline{COOH}}} \times a_{H^+}$$

où α est le degré de dissociation de l'acide en surface et $f_{\overline{COO^-}}$ et $f_{\overline{COOH}}$ les coefficients d'activité des groupes COOH et COO^- en surface.

Le coefficient d'activité $f_{\overline{COO^-}}$ est lié à l'enthalpie libre électrostatique d'excès du site chargé négativement par la relation :

$$R\,T\,\text{Log}\, f_{\overline{COO^-}} = N\, Z_{(-)}\, e\, \phi_o \qquad (43)$$

où $Z_{(-)} = 1$ et ϕ_o est le potentiel électrostatique au niveau de ce site.

Le coefficient d'activité $f_{\overline{COOH}} = 1$, il vient :

$$K_o = \frac{\alpha}{1-\alpha} \cdot a_{H^+} \cdot \exp.\left(-\frac{N\, e\, \phi_o}{R\,T}\right)$$

et

$$p\,K_o = -\log\frac{\alpha}{1-\alpha} + pH + \frac{N_e\,\phi_o}{R\,T}$$

En définissant : $p\,K\,\text{app.} = pH + \log\frac{1-\alpha}{\alpha}$, on voit que :

$$p\,K\,\text{app.} = p\,K_o - \frac{N_e\,\phi_o}{R\,T}$$

Et puisque le potentiel de surface mesuré est :

$$\Delta V = C^{te} + \phi_o$$

.../...

il vient :

$$p\,K\ app. = p\,K_o - \frac{N_e}{2{,}3\ R\ T}\ (\Delta\ V - C^{te})$$

p K app. varie linéairement avec Δ V. La pente de la droite obtenue est égale à $-\frac{e}{2{,}3R\ T} = 17{,}8\ Volts^{-1}$

ADDENDUM

LE P.S.16 EN COUCHES BIMOLECULAIRES

INTRODUCTION et BUT :

Parmi les diverses recherches qui nous orientèrent vers l'étude systématique des films étalés du copolymère de l'acide maléique et de l'éther cetyl-vinylique, dont il a été traité dans le développement de la thèse, il convient de mentionner une série d'expériences basées sur la formation des membranes asymétriques. Diverses techniques ont été envisagées, dont celle de MUELLER (45) qui est une technique de préparation de membranes bimoléculaires de lipides seuls. Nous avons préféré à cette technique, une technique voisine de celle de TSOFINA (46) (figures I et II) : deux interfaces de compositions identiques ou différentes sont amenées, au contact l'une de l'autre, à l'intérieur d'une phase organique. L'inconvénient majeur de cette technique est qu'elle fait intervenir un solvant organique (benzène, paraffine, etc...) qui reste incorporé dans la membrane artificielle et on peut se demander si ce solvant ne confère pas à la membrane ainsi formée, des propriétés différentes de celles de la membrane biologique. Le choix des substances utilisées pour préparer les modèles de membranes était limité, nous avons utilisé en particulier, cette molécule polyélectrolyte PS 16, surtout en fonction d'un critère : son caractère amphipatique. On sait que la nature hydrophile ou hydrophobe, de même que la concentration de l'eau, peut provoquer des changements de configuration et de conformation de cette molécule (voir chapitre V, page 34) ; c'est pourquoi, nous avons entrepris la préparation des membranes artificielles minces d'un polyélectrolyte hydrophobe, modèle particulier de protéine membranaire, pratiquement insoluble dans l'eau.

Les travaux sur le polymorphisme de certains polysavons par une équipe du C.R.M. de Strasbourg, en 1967, (31), nous ont incité à faire ce choix. Une étude particulière nous a montré, que, de même que le protéolipide de Folch-Pi, extrait de la myéline du cerveau de boeuf,

le PS 16 se rassemble à l'interface solvant organique/solution aqueuse et abaisse pratiquement jusqu'à zéro, la tension interfaciale. Dans ces conditions, on prépare des membranes assez stables de PS 16. On augmente la stabilité de celles-ci en ajoutant du fibrinogène à l'une des phases aqueuses ; nous avons pu constater que le fibrinogène et le PS 16 se rassemblent à l'interface solvant organique/solution aqueuse, la coalescence d'une goutte de phase aqueuse sans fibrinogène avec cette interface, produit une membrane asymétrique PS 16/Fibrinogène.

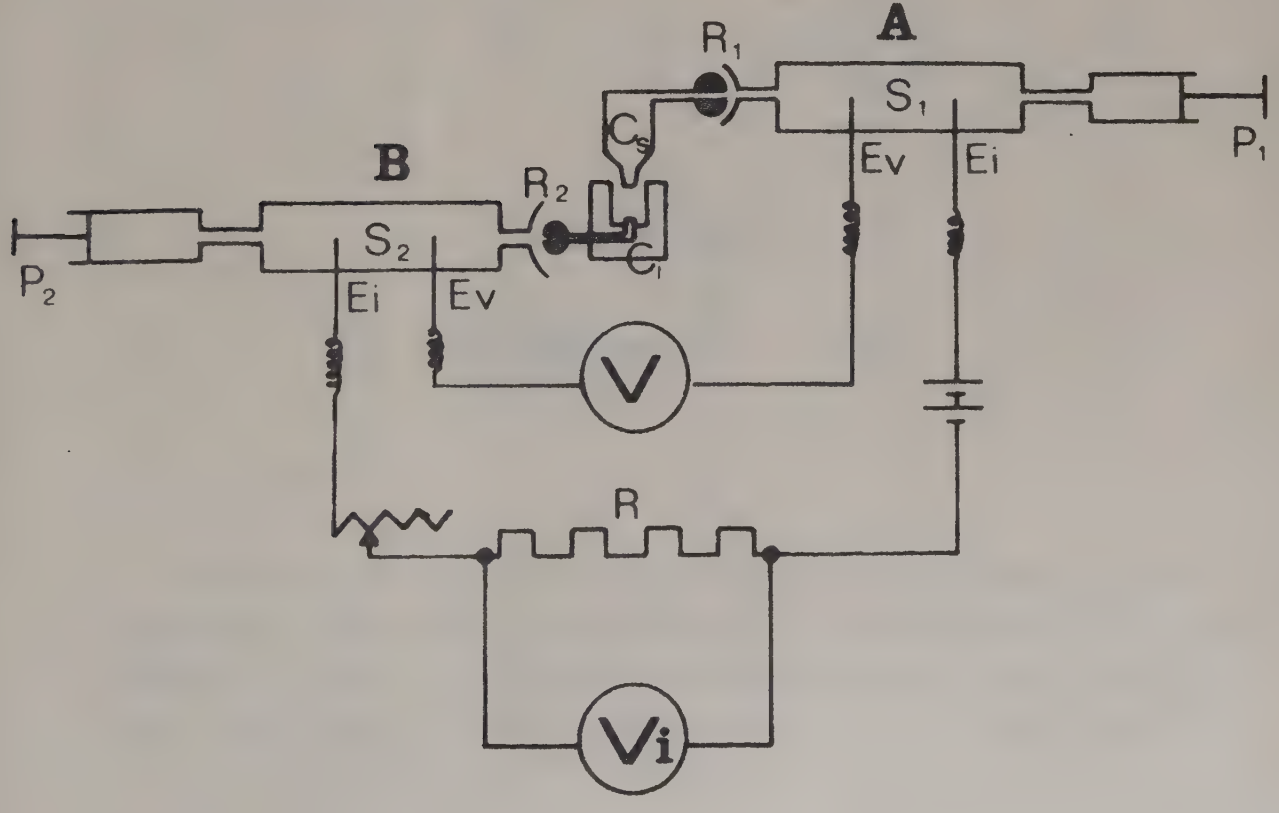
Les études entreprises sur ces systèmes membranaires, potentiel de membrane et conductance n'ont apporté, malheureusement, que très peu de renseignements sur les bases moléculaires de ces deux propriétés.

MATERIEL et METHODE

a). Films de PS 16 (superficiels et interfaciaux).

Les mesures ont été effectuées, dans cette partie de notre étude, au moyen d'une micro-balance C.I.Electronics Ltd.

b). Dispositif et appareillage utilisés pour la formation des membranes de PS 16.

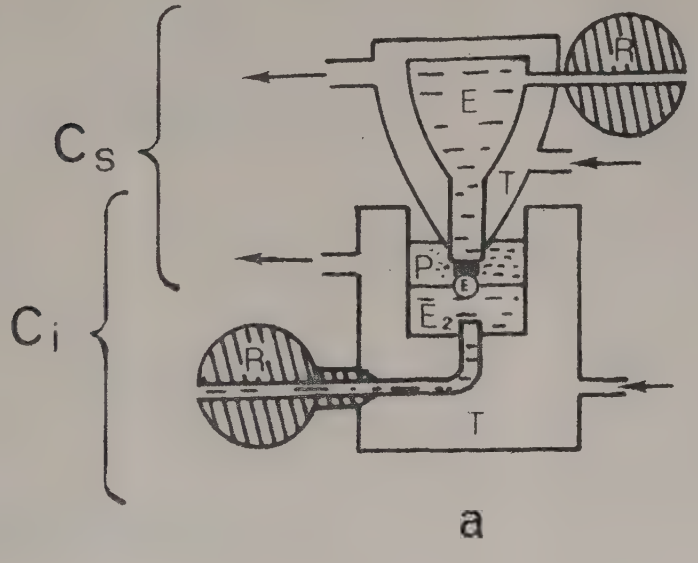


La figure I comporte deux parties A et B mobiles l'une par rapport à l'autre, grâce à un système de crémaillères : chaque partie comprend une demi-cellule (Cs ou Ci) un compartiment contenant la solution électrolytique (S_1 ou S_2), l'ensemble est relié par un rodage sphérique (R_1 ou R_2) qui assure la transmission des pressions exercées sur les pistons (P_1 ou P_2).

Chaque compartiment S_1 ou S_2 supporte deux électrodes : E (i) pour l'application d'un champ et E (v) pour mesurer la chute de potentiel à travers la membrane.

Le courant traversant la cellule est connu grâce à la résistance $R = 10^6$ ohms aux bornes de laquelle se trouve un voltmètre à haute impédance V (i).

La figure IIa représente en plus détaillées les demi-cellules Cs et Ci ; elles comportent une jaquette thermostatique (T) permettant de maintenir l'ensemble à la température désirée (37°C).



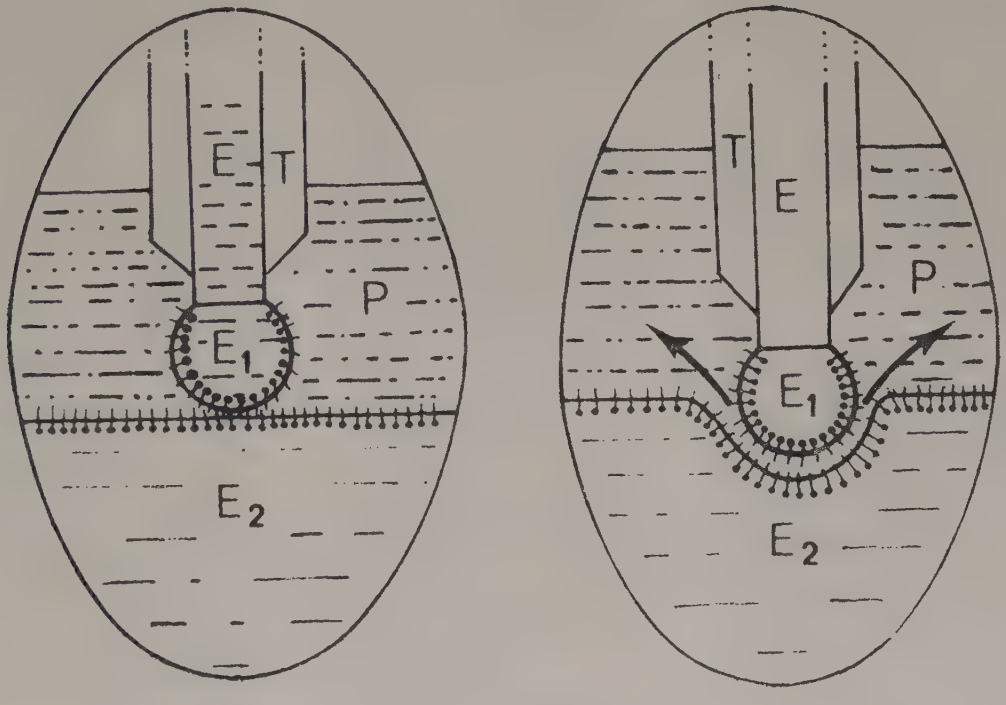
a

Dans la demi-cellule inférieure C (i) sont superposées la phase organique P (figure IIa, IIb) contenant le PS 16 en solution chloroforme/heptane (6/4) et la phase aqueuse électrolytique E_2 (figure IIa, IIb) ; cette phase aqueuse est donc en communication avec le compartiment S_2.

Pour la formation de membranes minces la goutte Es est formée dans la phase organique P (en poussant le piston P_1), ceci afin que les molécules amphipatiques de PS 16 s'arrangent et se répartissent à l'interface E_1/P(figure IIb) selon le mode classique, têtes polaires vers le solvant aqueux et queues paraffiniques vers le solvant organique, il en est de même à l'interface E_2/P (figure IIb).

Au moyen du système à crémaillère, on ramène les deux demi-cellules l'une vers l'autre, mettant en contact les deux interfaces E_1/P et E_2/P (figure IIC).

On commence alors les mesures électriques (conductance et potentiel de diffusion) sur le système ainsi constitué.



b c

CONDUITE DES EXPERIENCES

Le PS 16 se dissout dans les mélanges chloroforme/métanol, ainsi que dans le chloroforme et dans les mélanges de ce dernier avec le decane et l'heptane. Lorsque les solutions de PS 16 dans ces derniers mélanges sont placées au contact de solutions aqueuses, celui-ci précipite à l'interface solvant organique/eau : c'est une particularité commune au PS 16 et aux protéolipides en général. Lorsque le pH de la

phase aqueuse est très élevé, le PS 16 passe dans la phase aqueuse en changeant de conformation moléculaire : dans la phase organique, les chaînes cétyl sont au contact du solvant organique ; dans la phase aqueuse, ces chaînes hydrophobes sont associées et les groupes polaires sont au contact de l'eau. Ce changement de configuration est analogue à celui admis pour le protéolipide de Folch-Pi, dans ces conditions de solvatation (47)(48).

a) Tension interfaciale :

La préparation des membranes minces, à partir de solutions de molécules amphipatiques, exige que la tension interfaciale de ces solutions avec les phases aqueuses soit très faible (inférieure à 1 dyne$\times$cm^{-1}). Nous avons effectué l'étude des tensions interfaciales des solutions de PS 16 avec diverses phases aqueuses avant de préparer les membranes.

Les mesures de tensions interfaciales sont effectuées à 37°C pour les solutions de PS 16 dans les mélanges heptane + chloroforme (6/4 , V/V) et des solutions aqueuses de NaCl 0,1 M ou KCl 0,1 M à pH 7,4, en tampon phosphate. La tension interfaciale diminue en fonction du temps et atteint une valeur nulle. La durée de cette évolution diminue avec l'élévation de la concentration en PS 16. La précipitation et l'hydratation du PS 16 à l'interface des deux solutions peuvent expliquer cette chute de la tension interfaciale. Ces résultats peuvent nous laisser espérer une bonne stabilité des membranes formées.

b) Formation des lames minces :

Celles-ci sont formées à 37°C à partir de solutions de PS 16 (concentration 1%-) dans divers mélanges solvants :

- chloroforme + heptane (6/4, V/V)
- chloroforme + décane (6/4, V/V)
- chloroforme pur

Les phases aqueuses contiennent du KCl ou du NaCl en concentration isotonique (I), 1/10 ou 1/100, dans des mélanges isotoniques de NaCl + KCl dans des proportions 9/1 ou 1/9. Elles sont maintenues à pH 7,1, à l'aide du tampon Tris, M/100.

Nous avions ajouté du fibrinogène à l'une des phases aqueuses pour stabiliser les membranes de PS 16. La concentration de celui-ci variait entre 0,04 mg/cm^3 et 0,2 mg/cm^3. Dans ces conditions la membrane est asymétrique : elle est formée d'une couche de PS 16 et d'une couche de fibrinogène + PS 16.

RESULTATS :

a) Résistance électrique et potentiel des membranes de PS 16.

A l'aide de l'ensemble décrit dans la figure I, qui mesure courant et chute de potentiel de membrane, on détermine, soit la conductance de celle-ci, soit le potentiel de diffusion sous courant nul, à 37°C.

Le tableau suivant résume les conditions des expériences et les résultats obtenus.

	Demi-cellule I (sup)		Demi-cellule II (inf)				cel.sup.(+) cel.inf.(-)
	Fraction d'isotonie pour K^+	Fraction d'isotonie pour Na^+	Fraction d'isotonie pour K^+	Fraction d'isotonie pour Na^+	Résistance électrique $\Omega .cm^2$	ΔVo +mV	ΔVm +mV
	SOLVANT DU PS 16 : DECANE + CHLOROFORME						
a_1	0,1 . I	0,9 . I	0,9 . I	0,1 . I		4	
a_2	0,1 . I	0,9 . I	0,9 . I	0,1 . I	10^5		5 - 9
	SOLVANT DU PS 16 : HEPTANE + CHLOROFORME						
a_3	0,1 . I	0,9 . I	0,9 . I	0,1 . I	0		7 -10
b_1	0,1 . I	0	I	0		37,5	
b_2	0,1 . I	0	I	0	0		59 - 80
c	I	0	I	0	0		1 - 2
d	0	I	0	I	0		1 - 2

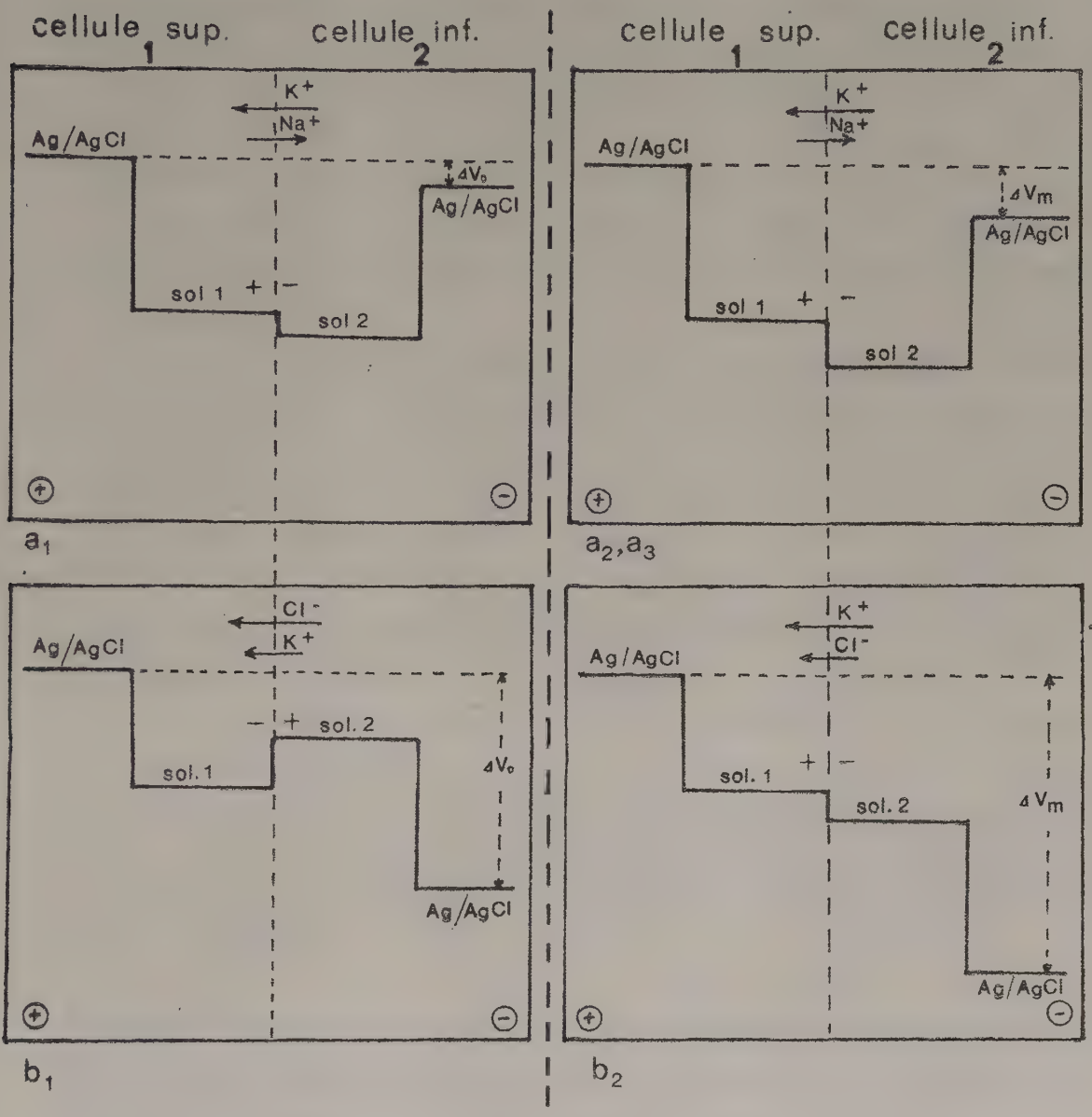
I : concentration isotonique (0,141 moléculaire) de KCl ou NaCl
ΔVo , ΔVm : potentiels mesurés respectivement en absence et en présence de membrane ; la résistance décroit en fonction du temps.

On peut illustrer le tableau précédent, au moyen des profils de potentiels, page 6.A bis.

Profils des potentiels

Sans Membrane

Avec Membrane



L'analyse de ces résultats conduit aux conclusions suivantes :

- le décane produit des membranes ohmiques, plus résistantes et plus stables que l'heptane
- le remplacement du décane par l'heptane produit des membranes dont la résistance est au début de leur formation égale à celle en présence du décane et qui diminue vers des valeurs négligeables.
- le potentiel de membrane sous courant nul : soit biionique, soit monoionique (de diffusion pour un ion) est indépendant de la nature du solvant paraffinique. Son signe pourrait indiquer que la membrane est permsélective aux cations et plus sélective au K^+ qu'au Na^+ (mesures a_2 et a_3).
- les mesures en milieu contenant un seul cation et en tampon Tris sont effectuées pour vérifier cette première conclusion. Elles semblent la confirmer. En effet, pour un rapport de concentration de KCl de 10, la membrane présente un potentiel de diffusion du K^+ égal à 59-80 mV. La membrane semble faciliter le passage des ions K^+ par rapport aux ions Cl^- (b_2) ; dans tous les cas, par contre, la membrane est moins sélective au Na^+ qu'au K^+ ; deux possibilités pour expliquer cette différence : ou bien,
  - une différence de stabilité de la membrane, selon le milieu KCl ou NaCl,
  - la membrane fonctionnerait comme un"filtre" dont les pores seraient tels qu'ils laisseraient plus aisément passer le K^+ que le Na^+ ; le rayon du K^+ hydraté étant inférieur à celui du Na^+ hydraté.

Ainsi que nous l'avions mentionné précédemment, nous supposons que la résistance élevée des membranes de PS 16 vient de la rétention des molécules de la paraffine normale du solvant par les chaînes de cétyl. du polyélectrolyte PS 16. Cette solvatation serait plus forte pour la paraffine normale plus lourde et rendrait compte de la différence entre les résultats obtenus avec décane et heptane. La solvatation serait également plus forte pour l'ion moins hydraté. Au fur et à mesure que la paraffine quitte la membrane de polysavon et que celui-ci passe à la conformation correspondant au milieu hydrophile, la résistance électrique de la membrane diminuerait.

b) Etude de la variation de la résistance électrique en fonction du passage du courant.

Remarques sur l'évolution de la résistance de la membrane de PS 16 :

Avec le décane : la membrane n'évolue pratiquement pas en fonction du temps (20 à 30 minutes)

Avec l'heptane : - Milieu NaCl - la vitesse de l'évolution de la résistance de la membrane dans ce milieu était trop rapide pour pouvoir être étudiée

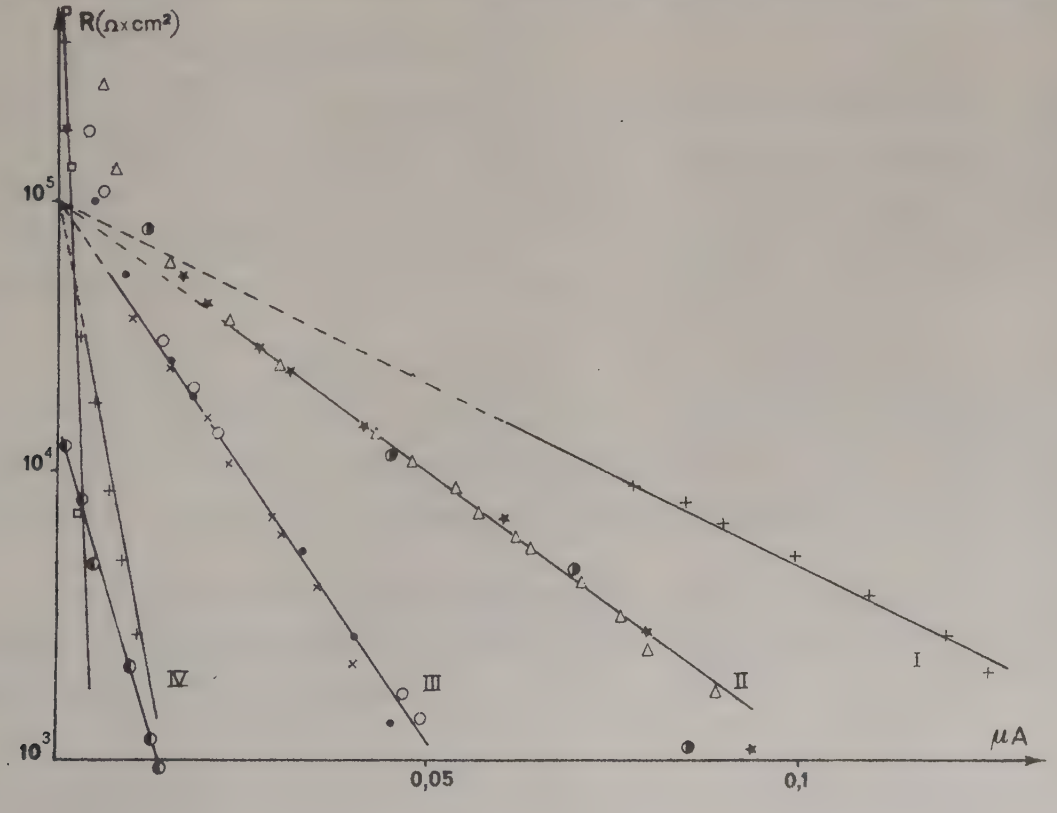
- Milieu KCl - la résistance diminue en fonction du temps.

Un premier paramètre de cette loi d'évolution est le courant qui traverse la membrane. Un second paramètre de cette évolution est la nature des cations qui traversent la membrane : la vitesse d'évolution en présence des ions K^+ est inférieure à celle en présence de Na^+.

Tout se passe comme si une réaction avait lieu entre le PS 16 de la membrane et les cations qui transportent le courant.

c) Résistance électrique des membranes de PS 16.

Sur la figure III nous avons porté en ordonnée les valeurs de R en ohms, et en abscisse le courant I. Les valeurs de R sont calculées à partir de l'intensité du courant traversant la résistance fixe R de 10^6 ohms et de la différence de potentiel de part et d'autre de la membrane, donnée par la lecture directe au moyen des électrodes sondes.



Le courant varie dès le début de l'expérience et la résistance de la membrane également. Les courbes se répartissent en gros suivant quatre groupes, à chaque groupe correspond le courant traversant la membrane en fin de mesure :

Le groupe 1 : 0,16 µA
" 2 : 0,1 µA
" 3 : 0,05 µA
" 4 : 15 nA

On voit que les différentes expériences faites pour des courants identiques, conduisent à des résultats comparables et que l'extrapolation des parties linéaires de ces courbes donnent une valeur de R reproductible (10^5 ohms).

La partie non linéaire et peu reproductible de la courbe, pour les grandes valeurs de R, correspondrait à l'expulsion du solvant.

CONCLUSION

Ces membranes sont formées par la coalescence de deux interfaces. Celles-ci limitent une solution de PS 16 dans un solvant organique (pur ou mélange) qui sépare deux phases aqueuses de compositions salines différentes. Il résulte que la membrane peut avoir des compositions différentes sur ses deux faces.

Si le mélange solvant du PS 16
contient du décane, les membranes sont plus stables que lorsque le solvant contient de l'heptane ou seulement du chloroforme. Comme pour la lécithine, il n'est donc pas possible d'obtenir des membranes stables en l'absence de paraffine assez lourde tel le décane. La résistance des membranes obtenues est alors de l'ordre de 10^5 Ωcm^2.

Il semble que la résistance de la membrane dépendedu taux d'heptane solubilisé par le polyélectrolyte, grâce aux liaisons hydrophobes. Celles-ci semblent plus faibles si le PS 16 est sous la forme de Na^+ que sous la forme K^+, le second ion étant moins hydraté que le premier.

Cette différence du taux d'hydratation entre les ions K^+ et Na^+ pourrait peut-être expliquer aussi le fait que, la membrane est permsélective aux ions K^+ seulement.

C'est donc pour accèder à des renseignements sur les bases moléculaires de propriétés telles que potentiel et conductance que nous avons entrepris le "corps" de cette étude sur le PS 16 étalé, en particulier, l'effet du pH sur le taux de fixation du calcium et le degré d'ionisation du PS 16.

ooOoo

VU ET PERMIS D'IMPRIMER
Marseille le 22 Septembre 1975
Le Président : F. BOREL

- B I B L I O G R A P H I E -

BIBLIOGRAPHIE

(1) RINGER S.
J. Physiol., Lond. 3, 380 (1882)

(2) RINGER S.
J. Physiol., Lond. 4, 29 (1883)

(3) RINGER S.
J. PHYSIOL. Lond 4, 222 (1884)

(4) RINGER S.
J. Physiol. Lond 7, 292 (1886)

(5) LOCKE F.S.
Zentbl. Physiol. 8, 166 (1894)

(6) OVERTON E.
Pflügers Arch. Ges. Physiol., 104-179 (1904)

(7) LOCKE F.S., ROSENHEIM O.
J. Physiol. Lond. 36, 205 (1907)

(8) HEILBRAUN L.V.
The dynamics of Living Protoplasm (Acad. Press. N.Y. 1956)

(9) CHAMBERS R, REZNIKOFF P.
J. Gen. Physiol., 8 , 396 (1926)

(10) POLLACK H.
J. Gen. Physiol. 11, 539 (1928)

(11) BIANCHI P.
"Cell Calcium". London Butterworths (1968)

(12) ABRAMSON H.A., MOYEZ L.S., GORIN M.M.
"Electrophoresis of Protein and the Chemistry of Cell Surfaces"
Ch. 14, Hafner, N.Y.

(13) CHANDLER W.K., HODGKIN A.L., MEVES H.
J. Physiol. London 180-821 (1965)

(14) ELUL R.
J. Physiol. London. 189-351 (1967)

(15) HILLE B.
J. Gen. Physiol. London. 51-195 (1968)

(16) KOKETSU K., KITAMURA R., TANAKA R.
Amer. J. Physiol. 207-509 (1964)

(17) GILBERT D.L., EHRENSTEIN G.
Biophys. J. 9, 447 (1969)

(18) KATZ B., MILEDI R.
Proc. Roy. Soc. 161-493 (1965)

(19) FORSTNER J., MANERY J.F.
Biochem. J. 124-563 (1971)

(20) FORSTNER J., MANERY J.F.
Biochem. J. 125-343 (1971)

(21) HILLE B.
J. Gen. Physiol. 51-221 (1968)

(22) MORAWETZ.
"Macromolecules in Solution". Vol. XXI. Interface Publ. N.Y.
New York, London, Sydney. (1965)

(23) JAFFE J., RUYSSCHAERT J.M., BRICMAN G.J.
Polym. Sci. (A.2) 8, 516 (1970)

(24) DERVICHIAN D.G.
"Techniques de Laboratoire" (J. Loiseleur) Tome I, Fasc. 2. Ed. Masson

(25) Lord RAYLEIGH.
Phil. Maga. 48, 337 (1889)

(26) OVERBEEK J. Th. G., VERWEY E.J.W.
"Theory of the stability of Lyophobic Colloids" Elsevier Publish
Comp. Inc. New York, Amsterdam, London, Brussels (1945)

(27) WILHELMY L.
Ann. Phys. 119, 177 (1863)

(28) LANGMUIR J.
J. Amer. Chem. Soc. 39, 1848 (1917)

(28') de HAULME M, HENDRICX Y., LUZZATI A., TERMINASSIAN-SARAGA L.
J. Coll. and Interf. Sc. 38 - 2 - 489 (1972)

(29) PLAISANCE M., TERMINASSIAN-SARAGA L.
C.R. Acad. Sc. Paris, t. 270. Série C. 1269 (1970)

(30) BERGERON J.A., GAINES G.L.
J. Colloid and Interface Sc. 23-2-292 (1967)

.../...

(31) SCHMITT A., VAROQUI R., SKOLIOUS A.
C.R.Acad.Sci. 268, 1469 (1969)

(32) CALDWELL P.C.
"Calcium and Cellular Function". Ed. A.W. Cuthbert Mac Millan
London 10 (1970)

(33) HAYDON D.A., TAYLOR F.H.
Phil. Trans. Roy. Soc. London Ser. A 252-225 (1960)
A.253-225 (1960)

(34) STRAUSS U.P. et GROSS L.M. p. 361

et (35) KATCHALSKI A., ALEXANDROWICZ Z., KEDEM O. p. 295
"Chemical Physics of ionic Solutions" Electrochemical Society Series.
Conway B.E. Barrabas Ed. (1960)

(36) LEVINE S., BELL G.M.
J. Phys. Chem. 67 (2) 1408 (1963)

(37) LEVINE S., MINGINS J., BELL G.M.
J. Phys. Chem. 67 (2) 2095 (1963)

(38) SINGER S.J.
Adv. Protein Chem. 17-1 (1962)

(39) TERMINASSIAN-SARAGA L.
J. Chim. Phys. 52,80 (1955)

(40) DEAMER D.W., CORNWELL D.G.
B.B.A. 116, 555 (1966)

(41) GOERKE J., HARPER H., BOROWITZ M.
"Surf. Chem. of Biol. Syst." Plenum Press (1970)

(42) GODDARD E.D., KAO O., KUNG H.C.
J. Colloid and Interface Sc. 24, 297-309 (1967)

(43) FOWLER R.H., GUGGENHEIM E.A.
"Statistical Thermodynamics". Cambridge, University Press (1939)

(44) Tanford C., KIRKWOOD J.G.
J. of Amer. Soc. 79, 20 (1957)

(45) MUELLER P., RUDIN D.O., TIEU H.T., WESCOTT W.C.
Nature 194, 979 (1962)

(46) TSOFINA L.M., LIBERMAN E.A., BASAKOV A.V.
Nature 212, 681 (1966)

(47) FOLCH-PI J.
Brain, Lipids and lipoproteines - Folch-Pi, J.Bauer, H.C Editeurs
Elsevier, New York, 18 (1963)

(48) ZAND, R.
Biopolymères 6, 939 (1968)